

Aus der Medizinischen Forschung im Hauptlaboratorium
der Schering AG Berlin
Leiter: Professor Dr. med. Martin Kramer

DIE WIRKUNG VON 17~~α~~-AETHINYL-19-NORTESTOSTERONAZETAT
AUF DIE HYPOPHYSÄRE LH- UND FSH-SEKRETION DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gerhard Kraehahn
aus Neuruppin

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Forschung im Hauptlaboratorium
der Schering AG Berlin

Leiter: Professor Dr. med. Martin Kramer

DIE WIRKUNG VON 17α -AETHINYL-19-NORTESTOSTERONAZETAT
AUF DIE HYPOPHYSÄRE LH- UND FSH-SEKRETION DER RATTE

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Gerhard Kraehahn

aus Neuruppin

Dekan: Professor Dr.med. Alfred N. W i t t

Referent: Professor Dr.med. Martin K r a m e r

Korreferent: Professor Dr.med. Helmut C o p e r



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 21. 9. 1967

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG.....	1
ZUR METHODIK DER TESTE.....	9
LH-Teste.....	9
FSH-Teste.....	10
Parabioseteste.....	12
Implantationsteste.....	13
MATERIAL UND METHODEN.....	16
Testsubstanz.....	16
Spendertier-Empfängertier-Teste.....	16
Parabioseteste.....	22
Statistik.....	23
ERGEBNISSE.....	25
Spendertier-Empfängertier-Teste.....	25
Parabioseteste.....	30
DISKUSSION.....	34
Die LH-Sekretion.....	34
Die FSH-Sekretion.....	37
ZUSAMMENFASSUNG.....	40
LITERATURVERZEICHNIS.....	42
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	53

EINLEITUNG

Vor etwa 10 Jahren gelang es der Arbeitsgruppe um Pincus, mit verschiedenen Steroiden, dem 17 α -Aethinyl-19-nortestosteron (Norethisteron, dem 17 α -Aethinyl-5,10-östren-17 β -ol-3-on (Norethynodrel) und dem 17 α -Aethyl-19-nortestosteron (Norethandrolon) Ovulationen bei Laboratoriumstieren und bei Frauen zu unterdrücken. Weitere 19-Nortestosteron-Derivate erwiesen sich ebenfalls als antiovulatorisch wirksam.

Im Clauberg-Test geprüft, besitzt eine Reihe dieser Derivate gestagene Eigenschaften: Unter dem Einfluß der Steroide kommt es am mit Östrogenen vorbehandelten Endometrium des Kaninchens zur Transformation in die Sekretionsphase (Hertz et al.1954; Pincus et al.1956; Junkmann 1963; Neumann et al.1964). In der anglo-amerikanischen Literatur werden Stoffe mit dieser Eigenschaft als "Progestine" bezeichnet (Pincus et al.1956 b).

Neben der gestagenen Wirksamkeit haben die "Progestine" in unterschiedlicher Stärke schwangerschaftserhaltende (Pincus et al. 1956 b), östrogene, anti-östrogene (Edgren 1957; Edgren 1958; Edgren 1959), androgene, anabole und gegen das ACTH gerichtete Potenzen (Junkmann 1963). Ihren "Wirkungsspektren" (Junkmann 1963) entsprechend eignen sie sich unterschiedlich gut als Therapeutika und Kontrazeptiva (Epstein et al.1958).

Mehrere der synthetischen Gestagene sind bei oraler Applikation stärker wirksam als das natürliche Steroid Progesteron (Hertz et al.1954; Ferin 1956; Junkmann 1963). Pincus (1956) benötigte täglich vom 5. bis zum 25.Zyklustag eine Dosis von 300 mg Progesteron, oral verabreicht, um bei der Frau die Ovulation zu hemmen. Aber selbst diese hohe Dosis dürfte nach Ferin (1961) nicht immer ausreichen, um einen anovulatorischen Zyklus zu erzeugen. In den heute üblichen Kontrazeptiva schwankt die Gestagenmenge je nach Präparat zwischen 0,5 mg und 10 mg. Allerdings befindet sich in diesen Präparaten stets ein Östrogenzusatz (17 α -Aethinyl-östradiol oder 17 α -Aethinyl-östradiol-3-methyl-äther (Mestranol); 0,05 mg bis 0,1 mg) (Richter 1963), der die kontrazeptive Wirksamkeit der Gestagen-Komponenten verstärkt (Mears 1960; Buchholz

et al.1964; Nevinny-Stickel 1964; Vanek 1964).

Folgende Wirkungsmechanismen der hormonellen Kontrazeptiva wurden diskutiert: Veränderungen des Cervixschleimes (Ferlin 1964; Mears und Grant 1962; Peeters et al.1964; Garcia und Pincus 1964) Störung der Tubenmotilität und -sekretion (Rudel und Kincle 1966) Schädigung der Zygote (Sas et al.1966), Nidationshemmung (Saunders 1964) und Ovulationshemmung (Pincus et al.1956 a+b; Rock et al.1956; Garcia et al.1958; Matsumoto et al.1960; Haller 1962; Szontágh und Sas 1964; Overbeek und de Visser 1964 a; Nevinny-Stickel 1964; Neumann et al.1964).

In der vorliegenden Arbeit ist die antiovulatorische Wirksamkeit der synthetischen Gestagene von Interesse. Der Ovulationshemmung könnten zwei verschiedene Wirkungsmechanismen zu Grunde liegen: In einem Falle würden die Gestagene direkt auf die Ovarien wirken und durch hemmende Einflüsse auf die Follikel Ovulationen verhindern; im anderen Falle würden sie zentral über die Hypophyse bzw. das Hypophysen-Zwischenhirn-System indirekt auf die Ovarien einwirken. Hierbei könnten sie die Gonadotropinsekretion verändern, wobei möglicherweise jene hormonalen Reize, die das Reifen der Follikel induzieren und/oder Ovulationen herbeiführen, beeinträchtigt oder aufgehoben werden. (Gaarenstroom und de Jongh 1946; Jones und Ball 1962; Dukes 1963; Greep et al.1942; Carter et al.1961). Die Beobachtungen verschiedener Autoren zu diesem Wirkortproblem werden im folgenden diskutiert.

Gonadotropinmengen im Harn gestagen-behandelter Frauen

Loraine (1960) prüfte bei Frauen, die an Dysmenorrhoe oder am Prämenstruellen Syndrom litten, die Effekte des Norethisteronazetats, indem er Östrogene, Pregnandiol und Gonadotropine im Harn bestimmte. Es zeigte sich, daß das normale rhythmische Bild der Steroidausscheidung während oraler Behandlung mit dem Gestagen aufgehoben wurde. Im Gegensatz hierzu waren die mit Hilfe des Maus-Uterus-Testes (Testmethode für LH+FSH; s.u.) erfaßten Gonadotropine nicht beeinflusst worden. Daraus schloß der Autor, daß eine peripher und direkt am Ovar angreifende Wirkung des

Norethisteronazetat vorliegen müsse. Diese Ergebnisse wurden von Brown, J.B. et al.(1962/3) bestätigt.

Der von den genannten Autoren verwendete Maus-Uterus-Test erfaßt jedoch die Gesamtgonadotropine, eine Mischung also von LH und FSH (Schmidt-Elmendorff et al.1962). So weiß man nichts über modifizierte Mengenverhältnisse der beiden Hormone im untersuchten Frauenharn, die sich zwar nicht auf das Uteruswachstum im Maus-Uterus-Test auszuwirken brauchten, wohl aber bereits Ovulationen bei der Frau verhindern könnten (Brown, J.B. et al.1962/3). Bei primär erhöhtem Harn-Gonadotropinspiegel postmenopausaler (Loraine 1961) und ovariectomierter Patientinnen (Emmens 1961, s.Martin und Cuningham 1961) konnte nach Behandlung mit 17α -Aethinyl-19-nortestosteronönanthrat bzw. 17α -Aethinyl-19-nortestosteron eine Herabsetzung der Gonadotropinausscheidung festgestellt werden.

Im Gegensatz zu Loraine (1961) und Brown, J.B. et al.(1960) fanden Buchholz et al.(1964) -wiederum mit dem Maus-Uterus-Test als Parameter- daß bei regelmäßig menstruierenden Frauen das in der Zyklusmitte liegende Maximum der Gonadotropinexkretion während einer Norethisteronbehandlung ausblieb. Die Basisausscheidung der Gonadotropine war unbeeinflußt. Östrogen- und Pregnandiolwerte waren während der Medikation gesenkt. Entsprechende Beobachtungen machten die gleichen Autoren mit einer Norethisteronazetat/Aethinyl-östradiol-Kombination (4 mg/0,05 mg) mit Norethisteron (15 mg), Aethinyl-östradiol (0,06 mg) und mit Lynestrenol (15 mg), wobei alle Steroide täglich vom 5. bis zum 24.Zyklustag in der angegebenen Menge appliziert worden waren. Diese Ergebnisse führten zu der Annahme, daß die Ovulation auf Grund gehemmter Gonadotropinsekretion blockiert werde.

Versuche von Brown, P.S. et al.(1964) sprechen ebenfalls für einen zentralen Angriffsort der Gestagene: Die Autoren wiesen mit einem immunologischen Gonadotropintest nach, daß regelmäßig menstruierende Frauen in der Zyklusmitte ein Maximum an LH im Harn ausschieden; unter dem Einfluß einer 20tägigen Behandlung mit Norethynodrel (2,5 mg/d) plus Mestranol (= 17α -Aethinyl-östradiol-3-methyl-äther) (0,075 mg/d) wurde die Ausscheidungsspitze von LH unterdrückt.

Allerdings ist die Ausscheidungsspitze von Gesamtgonadotropinen und LH um die Zyklusmitte umstritten. Die Edinburgher Arbeitsgruppe registrierte sie entweder überhaupt nicht (Brown, J.B. et al.1960) oder nur als eine variable, inkonstante Erscheinung (Loraine, 1960; Bell et al.1966). Loraine teilte ferner mit, daß seine Mitarbeiter die fragliche Ausscheidungsspitze in nur etwa 50 % der untersuchten Fälle beobachteten (Martin und Cuningham 1961). Im Gegensatz hierzu berichteten andere Autoren, daß sie die Ausscheidungsspitze regelmäßig gefunden hätten (Buchholz 1957; Morat6-Manaro et al.1960; Buchholz et al.1964; Brown, P.S. et al.1964).

Als mögliche Ursache dieser unterschiedlichen Ergebnisse sieht Johnson (1961) sehr kurzfristige Sekretionsschwankungen der Gonadotropine, die nicht immer genau zu erfassen seien.

Das Ausscheidungsmaximum der Gonadotropine während der Zyklusmitte ist bedeutungsvoll, weil sich jene Autoren, die dieses Phänomen beobachteten, für einen zentralen, hypophysär-diencephalen Angriffsort der Gestagene aussprechen - während Autoren, die einen zentralen Angriffsort ablehnen, eine rhythmisch veränderte Gonadotropinausscheidung nicht regelmäßig feststellen. Da die Gestagene wahrscheinlich die Basalausscheidung der Gonadotropine nicht senken, sondern nur die Ausscheidungsspitze in der Zyklusmitte aufheben (Buchholz et al.1964), werden diese entgegengesetzten Ansichten verständlich: Autoren, die das Maximum nicht erfaßten, sprachen sich gegen eine mögliche Hemmung der Gonadotropinsekretion durch die untersuchten Steroide aus (Loraine 1960; Brown, J.B. et al.1962/3).

Gonadotropingehalt der Hypophyse von gestagen-behandelten Ratten

Saunders und Drill (1958) behandelten erwachsene männliche Ratten mit Norethynodrel (1 mg/d). Die Tiere wurden nach einer Versuchsdauer von 5 Tagen getötet, ihre Hypophysen entfernt und homogenisiert. Das Homogenat wurde weiblichen juvenilen Ratten s.c. injiziert. Als Parameter für die im Homogenat befindlichen FSH/LH-Mengen diente das Wachstum von Uteri und Ovarien dieser Tiere. Im Homogenat steroid-behandelter Spenderratten befand sich weniger Gonadotropin als im Homogenat unbehandelter Spender-ratten.

Szontágh (1963) konnte mit Hilfe des ventralen Prostatatestes an infantilen hypophysektomierten Ratten eine Verringerung der LH-Menge in der Hypophyse von mit Lynestrenol behandelten Ratten feststellen.

Diese Versuchsergebnisse sprechen für eine Hemmung der gonadotropen Hypophysenfunktion der mit Gestagenen behandelten Ratte.

Gonadotropinbestimmungen an parabiontischen Tieren

Parabioseversuche an Ratten und Mäusen sind geeignet, die durch Kastration gesteigerte hypophysäre Gonadotropinsekretion und ihre Hemmung durch eine Reihe von Steroiden quantitativ faßbar zu machen. (Meyer und Hertz 1937; Hertz und Meyer 1937; Finerty 1952; Perrine 1961). - Im Parabiosetest wurden unter anderem folgende Gestagene untersucht: Norethisteron und Norethisteronazetat, Norethandrolon, Norethynodrel, Lynestrenol, 6 α -Methyl-17 α -azet-oxy-progesteron. Diese Steroide hemmten die Gonadotropinsekretion (Goldman et al. 1957; Epstein et al. 1958; Miyake 1961; Falconi und Bruni 1962; Neumann 1964; Overbeek und de Visser 1964 b).

Untersuchungen mit dem Milz-Ovar-Planimeter-Test

Die gonadotrope Funktion des Hypophysenvorderlappens erfaßte Haller (1958, 1960, 1961, 1962) mit Hilfe des sog. Milz-Ovar-Planimeter-Testes. Hierbei wurden weibliche Versuchstiere ovariectomiert; ein Ovar wurde dann als Autotransplantat unter die Milzkapsel gepflanzt. Die Testsubstanz wurde den Tieren s.c. appliziert. Am Ende der Versuchsperiode wurden die Autotransplantate im Serienschnitt mikroskopisch untersucht und die Zahl und der Zustand der Follikel und corpora lutea erfaßt. - Dieses Vorgehen hat folgende theoretische Grundlage: Die in den Autotransplantaten gebildeten Hormone werden durch den Pfortader-Kreislauf direkt der Leber zugeführt und inaktiviert. Das somit durch Ovarialhormone unbeeinflusste Hypophysen-Zwischenhirn-System produziert daher große Mengen von Gonadotropinen. Hieraus resultieren große, zystische, blutige Follikel, ferner vermehrte und vergrößerte corpora lutea. Substanzen, die direkt am Hypophysen-Zwischenhirn-System der Testtiere angreifen und deren Gonado-

tropinsekretion hemmen, haben zur Folge, daß das autotransplantierte Ovar in der Milz weniger stark stimuliert wird: Follikel und corpora lutea sind quantitativ und qualitativ reduziert.

Haller wies mit dieser Technik nach, daß u.a. 17 α -Aethinyl-19-nortestosteronazetat eine zentral ansetzende, gonadotropinhemmende Eigenschaft besitzt.

Effekte von Gestagenen auf die Ovarfunktion bei gleichzeitiger Gabe von Gonadotropinen

Testpersonen oder Laboratoriumstieren wurden Gonadotropine parenteral zugeführt und gleichzeitig Gestagene verabfolgt. Dieses Verfahren hat den Vorteil, daß etwaige Effekte der Gestagene auf die Gonadotropinsekretion durch exogene Gonadotropine verdeckt werden; würden die Gestagene die Gonadotropinsekretion tatsächlich hemmen, so könnte sich diese Hemmung dennoch nicht am Ovar auswirken, da der Gonadotropinspiegel im Blut künstlich auf hohem Niveau konstant gehalten wird.

Lunefeld et al.(1963) untersuchte im Sinne dieser Arbeitshypothese Frauen, die seit mehreren Jahren amenorrhoeisch waren. Er fand bei ihnen keine Gonadotropine und einen nur sehr geringen Östrogen- und Pregnandiolspiegel im Harn. Nach Applikation von Gonadotropinen stiegen die Steroidwerte im Harn auf ein Niveau an, das bei normal menstruierenden Vergleichspersonen gefunden wird. Wurden jedoch gleichzeitig vom 5. bis zum 25. Zyklustag 6 α -Methyl-17 α -azetoxy-progesteron (5 mg/d) + Aethinyl-östradiol (0,05 mg/d) verabreicht, so entfiel der zuvor beschriebene Anstieg der Steroide im Harn. Diese Ergebnisse ließen vermuten, daß die verwendeten Steroide ihre antioovulatorische Wirksamkeit am Ovar direkt entfalten.

Nach Johannisson et al.(1965) jedoch wird an Frauen, die von exogenen Gonadotropinen angeregte ovarielle Steroidsekretion durch die Gabe von 17 α -Aethinyl-19-nortestosteron-azetat (12 mg/d) + Aethinyl-östradiol (0,075 mg/d) nicht unterdrückt. Die Autoren vermuten daher einen zentralen Wirkort der untersuchten Steroide. Matsumoto und Kurisaki (zitiert von Matsumoto et al.1960) zeigten,

daß sich exogene Gonadotropine auf das Ovar der hypophysektomierten Ratte weniger stark auswirkten, wenn gleichzeitig 17 -Methyl-19-nortestosteron bzw. 17 α -Äthyl-19-nortestosteron appliziert wurde.

Im Gegensatz hierzu beobachteten Saunders und Drill (1958), daß die Reaktion des Ovars hypophysektomierter Ratten auf exogene Gonadotropine durch gleichzeitige Gabe von Norethynodrel (0,4 mg/d; 5 Tage lang) nicht verändert wurde. Norethisteron (1 mg/d; 12 Tage lang) modifizierte ebenfalls nicht die ovarielle Reaktion hypophysektomierter, gonadotropin-substituierter Ratten (Miyake und Kobayashi 1960; Smith und Bradbury 1966).

Ferner fanden Edgren und Carter (1962), daß beim Kaninchen die Reaktion des Ovars auf HCG (Auftreten hämorrhagischer Follikel 24 Stunden nach der Injektion; als Zeichen der Ovulation) durch Applikation von Progesteron, Norethynodrel oder Norethisteron nicht beeinträchtigt wurde.

Diese Versuche werden als Beweise dafür angesehen, daß die untersuchten Steroide am Hypophysen-Zwischenhirn-System angreifen und hier die Gonadotropinsekretion hemmen.

Die zitierten unterschiedlichen Interpretationen über den Wirkort der Gestagene sind verständlich, weil unterschiedliche Versuchsmodelle und Arbeitsmethoden verwendet wurden. Außerdem benutzten die verschiedenen Arbeitsgruppen jeweils nur eine Auswahl von Gestagenen in unterschiedlicher Konzentration an unterschiedlichen Testobjekten.

Es bleibt fraglich, ob die Gestagene über einen für sie alle gültigen Mechanismus die Ovulation unterdrücken (Eckstein und Mandl 1962; Falconi und Bruni 1962; Overbeek und de Visser 1964 b). Szontágh und Sas (1964) vermuten, daß die Gestagene sowohl auf das Ovar selber als auch auf die Hypophyse wirken.

Die Mehrzahl der vorliegenden Versuchsergebnisse spricht jedoch für einen hypophysär-diencephalen Wirkort, für eine Hemmung der Gonadotropinsekretion und ein dadurch bedingtes Ausbleiben der Ovulation.

Nur wenige Autoren versuchten zu klären, ob die Gestagene selektiv die Sekretion von FSH oder LH beeinflussen.

Buchholz et al.(1964) und Brown, P.S. et al.(1964) wiesen bei der Frau nach, daß die LH-Sekretion der Hypophyse unter dem Einfluß von Norethisteron bzw. Norethynodrel + Mestranol gehemmt wird. Das Fehlen reifer Follikel im Ovar der mit verschiedenen Gestagenen (Methylöstrenolon, Norethisteron, Norethisteronazetat, Norethynodrel, Norethandrolon) behandelten Frau und die Notwendigkeit, daß gleich zu Beginn des Zyklus die Steroidbehandlung einsetzen muß, damit Ovulationen sicher verhindert werden (Pincus et al.1958; Matsumoto et al.1960), deuten darauf hin, daß auch die FSH-Sekretion der Hypophyse gehemmt sein könnte (Holmes und Mandl 1962; Dukas 1964).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von 17 α -Aethinyl-19-nortestosteronazetat sowohl auf die hypophysäre LH- als auch auf die hypophysäre FSH-Sekretion untersucht.

ZUR METHODIK DER TESTE

Eine Vielzahl von Methoden zur selektiven Bestimmung von LH und FSH in biologischem Material ist veröffentlicht worden. Schon 1956 gaben Diczfalusy und Heinrichs elf LH- und neun FSH-Testmethoden an. In der Folgezeit hat sich die Zahl der publizierten Tests noch erhöht (Parlow 1958; Payne und Runster 1959; Payne et al. 1959; Ellis 1961).

Bei diesen biologischen Tests wird das auf LH und FSH hin zu untersuchende Material, das aus sog. Spendertieren stammt, sog. Empfängertieren verabreicht. Die mikroskopisch, gravimetrisch oder chemisch erfaßbaren gonadotropinbedingten Reaktionen dieser Tiere werden quantitativ oder qualitativ registriert. Die Stärke der Reaktionen dient als Parameter für die verabreichten Gonadotropinmengen.

Immunologische LH-Tests sind von Wide (1962), Brown, P.S. et al. (1964) und Ritzallah et al. (1965) angegeben worden.

In der vorliegenden Arbeit wurde der LH-Test nach Greep et al. (1941) und der FSH-Test nach Paesi et al. (1951) verwendet.

Der LH-Test basiert auf der Tatsache, daß das Gonadotropin die Zwischenzellen des Hodens zur Androgenproduktion anregt und Androgene wiederum einen wachstumsstimulierenden Effekt auf die accessorischen Geschlechtsorgane ausüben. Zwischen der verabreichten LH-Menge und dem Gewicht der ventralen Prostata besteht eine dosisabhängige Beziehung (Greep et al. 1940; Greep et al. 1942; Simpson et al. 1942; Paesi et al. 1956; Woods und Simpson 1961).

Die Spezifität dieses LH-Testes ist umstritten. Greep et al. (1941), Lohstroh et al. (1958), Woods und Simpson (1961) und Rosenberg et al. (1965) zeigten, daß sich FSH auf das Wachstum der ventralen Prostata in juvenilen hypophysektomierten Ratten nicht auswirkt. Parlow und Reichert (1963 a) dagegen stellten fest, daß das Prostatawachstum durch FSH-Gaben beeinträchtigt wird. Diese gegenteiligen Beobachtungen können darauf beruhen, daß die einzelnen Autorengruppen FSH- und LH-Zubereitungen aus

Hypophysen jeweils verschiedener Tierspezies benutzten und sich die Zubereitungen qualitativ und speziesabhängig voneinander unterschieden (Parlow und Reichert 1963 b; Parlow 1963). Parlow und Reichert (1963 a) fanden außerdem, daß die Reaktion der ventralen Prostata der juvenilen hypophysektomierten Ratte auf Rat-ten-LH durch Ratten-FSH nicht beeinträchtigt wird.

Segaloff et al.(1956) zweifelten die Spezifität des LH-Testes an und wiesen nach, daß die gleichzeitige Gabe von LTH (aus Hypophysen von Schaf, Rind oder Schwein hergestellt) und LH das Prostatawachstum mehr stimuliert als die alleinige Gabe von LH. Lohstroh et al.(1958) fanden, daß LTH und GH die Reaktion der ventralen Prostata von Sprague-Dawley-Empfängertieren auf LH verstärken. Bei Empfängertieren vom Long-Evans-Stamm konnte dieses Phänomen nicht beobachtet werden. Woods und Simpson (1961) bestätigten die Ergebnisse von Lohstroh et al.(1958). Sie machten aber die Beobachtung, daß in der 40 Tage alten hypophysektomierten Ratte die Gabe von LH und die gleichzeitige, mengenmäßig abgestufte Gabe von LTH und GH nicht zu einer dosisabhängigen Reaktion der ventralen Prostata führt. TSH, ACTH, Nebennierenrinden-Extrakte und Corticosteronazetat sind - weder allein gegeben noch in Kombination mit LH - ohne Einfluß auf das Wachstum der ventralen Prostata. (Woods und Simpson 1961; Greep et al.1942).

Nach van Rees et al.(1961) übt LTH keinen Wachstumsreiz auf die ventrale Prostata aus und die zuvor diskutierte prostatastimulierende Wirkung von GH ist durch LH-Verunreinigungen in den GH-Präparaten bedingt.

Sollte LTH und/oder GH die Reaktion der ventralen Prostata in hypophysektomierten Empfängertieren tatsächlich verstärken, aber keine dosisabhängige Wirkung an diesem Organ entwickeln (Woods und Simpson 1961), so wäre der LH-Test nach Greep durchaus zur vergleichenden Prüfung von LH-Aktivitäten geeignet.

Das FSH-Testprinzip geht auf folgende Beobachtungen zurück: Greep et al.(1940) und Greep et al.(1942) fanden,daß biologisch reines FSH das Hodenwachstum hochgradig stimuliert. Allerdings führt auch LH zum Hodenwachstum. Wachstum und Differenzierung der

Tubuli seminiferi und Entwicklung reifer Spermien verlaufen jedoch erst dann optimal, wenn FSH und LH gemeinsam hypophysektomierten Ratten injiziert werden (Woods und Simpson 1961).

Um diese optimale Wachstumsreaktion zu erzielen, wird den Empfängertieren des FSH-Testes neben dem auf FSH-Aktivitäten hin zu untersuchenden Material HCG in der sehr hohen Dosis von 20 I.E./Tag injiziert. HCG ist menschliches Chorion-Gonadotropin, das die biologische Wirksamkeit des hypophysären LH bzw. ICSH besitzt (Lamond und Emmens 1961; Simpson 1961). Chemisch ist HCG von LH bzw. ICSH unterscheidbar (Werth 1955, 1955/6). Das HCG "maskiert" außerdem die hodengewichtsstimulierende Wirkung von LH-Aktivitäten in ungereinigtem Untersuchungsmaterial (van Rees 1964; Gans und van Rees 1966). Unterschiede in der Hodengewichtszunahme von Tag 1 bis 8 werden daher nicht durch differierende LH- sondern FSH-Mengen hervorgerufen (Paesi et al. 1951; Paesi et al. 1955).

Allerdings fanden Woods und Simpson (1961), daß LTH und GH ebenfalls das Hodenwachstum stimulieren, aber nur dann, wenn beide Hormone gleichzeitig mit FSH oder mit einer Mischung aus FSH und LH verabreicht werden. Es ließen sich jedoch keine Dosiswirkungskurven für den Effekt von LTH und GH auf das Hodenwachstum darstellen. - TSH und ACTH (Woods und Simpson 1961), Nebennierenrinden-Extrakte und Desoxycorticosteronazetat (Greep et al. 1942) sind ohne Wirkung auf das Hodenwachstum.

Nach Gans und van Rees (1966) sind die Hypophysenhormone LH, TSH, LTH, GH und ACTH ohne Einfluß auf das Hodenwachstum im FSH-Test nach Paesi.

Die Diskrepanz zwischen den eigenen Beobachtungen und denen von Woods und Simpson (1961) erklären Gans und van Rees (1966) damit, daß von jenen Autoren ältere Ratten als Testtiere benutzt worden seien und daß die Behandlung dieser Tiere doppelt solange dauerte wie in den eigenen Versuchen.

Der FSH-Test nach Paesi (1951) scheint gut geeignet zu sein, FSH-Aktivitäten in ungereinigtem Material quantitativ zu erfassen. Die Präzision der logarithmischen Dosiswirkungskurve sei zudem besser als die des FSH-Testes nach Steelmann und Pohley

(1953) (Gans und van Rees 1966).

Mit Spendertier-Empfängertier-Testen (siehe "Material und Methoden") wurde in der vorliegenden Arbeit der Einfluß von 17α -Aethinyl-19-nortestosteronazetat auf den LH- und FSH-Gehalt der Hypophysen weiblicher geschlechtsreifer Ratten untersucht. Da die Gonadotropin-Testung im Serum dieser Ratten wegen der dazu erforderlichen großen Serummenge sehr aufwendig ist, wurde mit dieser Methode nur der Einfluß des Steroids auf den Serum-LH-Spiegel untersucht; der FSH-Spiegel im Blute bzw. den Körperflüssigkeiten wurde indirekt mit Parabiose-Testen bestimmt.

Parabioseteste wurden hauptsächlich benutzt, um den Einfluß verschiedener Steroide auf die gonadotropen Funktionen der Hypophyse zu erfassen (Clini et al.1957; Goldman et al.1957; Epstein et al.1958; Kinle und Dorfman 1961; Miyake 1961; Falconi und Bruni 1962). Das hier interessierende 17α -Aethinyl-19-nortestosteronazetat (AENTA) wurde im Parabiosetest von Neuman et al. (1964) untersucht. Dabei konnte eine Hemmung der Gonadotropinsekretion durch die Behandlung mit dem Steroid nachgewiesen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Parabioseverfahren modifiziert und methodisch mit dem früher beschriebenen FSH-Test (siehe "Material und Methoden") kombiniert, um das Gonadotropin FSH selektiv erfassen zu können.

Dieses modifizierte Parabioseverfahren hat folgende theoretischen Grundlagen: Im FSH-Test nach Greep et al.(1941) wird sog.Empfängertieren Material injiziert oder implantiert, das den sog.Spendertieren entnommen wurde. Die Hodengewichtszunahme der Empfänger-tiere dient als Parameter für die FSH-Menge im verabreichten Spendertiermaterial.

In den Parabiosetesten dieser Arbeit entsprach ein Parabiont dem Spendertier, der andere dem Empfängertier. Die Hodengewichtszunahme beim hypophysektomierten parabiontischen Empfängertier diente als Parameter für die vom parabiontischen Spendertier gebildeten FSH-Mengen. Das vom parabiontischen Spendertier gebildete FSH erreichte das parabiontische Empfängertier auf dem

Wege gemeinsamer, neugebildeter Blutgefäße und kommunizierender Peritonealhöhlen. Um FSH-Sekretion des parabiontischen Spendertieres auf hohem Niveau zu halten, wurde es vollständig kastriert. (Hertz und Meyer 1937; Meyer und Hertz 1937; Meyer und Biddulph 1941). Entsprechend dem FSH-Test nach Greep wurden dem parabiontischen Empfängertier täglich 20 I.E. HCG s.c. injiziert.

Außerdem wurden in der vorliegenden Arbeit sog. Implantations-Teste durchgeführt. Mit diesen Versuchen sollte die Abgabebereitschaft für LH und FSH (readiness to release) implantierter Drüsen untersucht werden. Die Aussagekraft dieser Teste ist allerdings sehr problematisch.

Bei den von der Leidener Schule (Paesi et al. 1957) angegebenen Testen wird experimentell so verfahren, daß eine Spendertierhypophyse einem Empfängertier intraperitoneal implantiert wird. Nach 7-tägiger Testdauer wird die Hodengewichtszunahme (FSH-Test) oder das Gewicht der ventralen Prostata (LH-Test) ermittelt. Von der Wachstumsintensität dieser Organe schließt man auf die von der implantierten Hypophyse abgegebenen Gonadotropin-Mengen. Neben diesen Implantationstesten wurden Experimente in vitro durchgeführt; dabei inkubierte man Spendertierhypophysen in ein Medium und bestimmte anschließend dessen Gonadotropin-Gehalt. (van Rees 1961).

Die Versuche der genannten Autoren ergaben folgendes:

- 1.) Die Hormonabgabe von implantierten und inkubierten Hypophysen ist abhängig von der Art der Steroidbehandlung der Spendertiere (s.c. Gaben von Östrogenen oder Testosteron). (Paesi und van Rees 1960; van Rees 1961)
- 2.) Die Hormonabgabe implantierter Hypophysen ist unabhängig von den Hormonmengen, die sich in ihnen befinden; d.h. bei hohem Hormongehalt der Drüsen kann die Hormonabgabe der implantierten Organe gering sein und vice versa. (Paesi et al. 1957; Hoogstrah und Paesi 1957)

Auf Grund dieser Ergebnisse postulierte man eine Eigenschaft der Hypophyse, die man "readiness to release" (Abgabebereitschaft) nannte, worunter also die Funktion der Hypophysenzelle

verstanden wird, Gonadotropine unabhängig vom Gonadotropingehalt der Zelle in unterschiedlicher Menge bei der Implantation oder Inkubation freizusetzen. Mechanismen, die unmittelbar diese Funktion regulieren, sind in der Nähe der Zellmembran zu lokalisieren (Paesi et al.1957).

Man nimmt an, daß die Abgabebereitschaft der Hypophyse in der sella turcica durch Zwischenhirneinflüsse reguliert wird. Nach der Entnahme aus der sella soll die Wirkung dieser Einflüsse auf die Abgabebereitschaft fort dauern; d.h. die Hypophyse soll während der Implantations- und Inkubationszeit die Höhe der Abgabebereitschaft beibehalten, die sie gerade in dem Augenblick besaß, als sie vom Zwischenhirn getrennt wurde (Paesi und van Rees 1960).

Schwierig wird die Interpretation der Implantationsversuche, wenn man neuere Veröffentlichungen über die Physiologie des Hypophysen-Zwischenhirn-Systems berücksichtigt.

Nikitovitch-Winer und Everett (1959) zeigten, daß unter die Nierenkapsel autotransplantierte Ratten-Hypophysen ihre normale morphologische Differenzierung verlieren und erst bei Retransplantation in den Hypothalamus wiedergewinnen. Das demonstriert, daß Hypophysen zur Aufrechterhaltung ihrer morphologischen Differenzierung - und sicher auch ihrer Funktion - der Einflüsse des Zwischenhirns bedürfen. Intraperitoneal implantierte Drüsen sind jedoch diesen Einflüssen entzogen.

Gesichert ist heute, daß sog. Releasing-Faktoren die Funktion der Hypophyse regulieren (McCann et al.1964; McCann und Taleisnik 1961; Schally und Bowers 1964; Corbin und Cohen 1965). Es handelt sich dabei um Polypeptide (Guillemin 1964), die in bestimmten Teilen des Gehirnes gebildet werden (Endröczy und Hilliard 1965) und die Hypophyse auf dem Blutwege erreichen (Harris 1961). - Schon 10 Minuten nach Injektion dieser Releasing-Faktoren für FSH und LH kommt es bei der Ratte zum Anstieg des Blutspiegels von FSH und LH (McCann et al.1964). Dieses kurzfristige Ansprechen der Hypophyse auf hypothalamische Releasing-Faktoren entspricht der Beobachtung von Everett (1956), daß ein neurogener Stimulus zur Freisetzung von "Ovulationshormon" in der Ratte nur während einer kurzen Zeitspanne von 30 Minuten am

Nachmittag des Prooestrus in Erscheinung tritt. Die Gonadotropinabgabe der Hypophyse wird also relativ schnell durch hypothalamische Einflüsse reguliert.

Entsprechend der Hypothese von Paesi et al.(1957) jedoch verbleibt die Hypophyse während ihrer 7-tägigen Implantationszeit bezüglich ihrer Hormonabgabebereitschaft starr in einem Funktionszustand. In Anbetracht der kurzfristigen und offensichtlich den physiologischen Erfordernissen angepassten Regulationen der hypophysären Gonadotropinabgabe durch hypothalamische Releasing-Faktoren, bleibt die Hypothese von Paesi et al.(1957) fragwürdig.

Dennoch haben Gans und de Jongh (1959) mit dem Implantationstest bemerkenswerte Ergebnisse erzielt. Die Autoren untersuchten die LH-Abgabebereitschaft von Hypophysen unbehandelter weiblicher Spender-Ratten, die an den verschiedenen Tagen ihres vaginalen Zyklus getötet worden waren. Jene Hypophysen gaben bei intraperitonealer Implantation am meisten LH ab, die den Spendertieren kurz vor deren Ovulation entnommen worden waren. Diese Beobachtung bestätigte die schon von Hohlweg (1936) vermutete präovulatorisch verstärkte hypophysäre LH-Ausschüttung. Eine in der Zyklusmitte liegende verstärkte LH-Ausschüttung wurde auch von anderen Autoren nachgewiesen (Schwartz und Cardarelli 1965; Swelheim 1965; Anderson und McShan 1966).

MATERIAL UND METHODEN

Die Testsubstanz war 17 α -Aethinyl-19-nortestosteronazetat (AENTA) (Norethisteronazetat). Die Strukturformeln von AENTA, Testosteron und Progesteron zeigt Abb.1.

Spendertier-Empfängertier-Teste

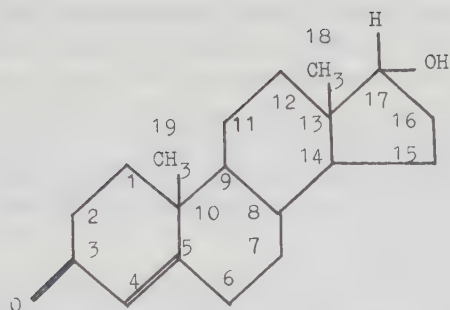
180 - 200 g schwere Sprague-Dawley-Ratten wurden 12 Tage lang mit AENTA in öliger Lösung subcutan behandelt. (Dosierung: 1 mg/d/100g Kg; Lösungsmittel: Rizinusöl/Benzylbenzoat 5:1 ; 1 mg AENTA in 0,1 ml). Am 13. Tag nach Behandlungsbeginn wurden die Tiere getötet.

Kontrolltiere wurden während eines Zeitraumes von ca. 2 Wochen täglich zwischen 10 und 12 Uhr vaginal abgestrichen und anhand der mikroskopischen Abstrichbilder den verschiedenen Zyklusstadien zugeordnet: Östrus ("Ö"): überwiegend verhornte Epithelzellen; 1.Tag des Diöstrus ("D1") und 2.Tag des Diöstrus ("D2"): überwiegend Leukozyten; Proöstrus ("P"): überwiegend kernhaltige Epithelzellen. Am Tage der Autopsie wurden die Tiere mit regelmäßigem viertägigen Zyklus den 4 Zyklusstadien entsprechend 4 Kontrollgruppen zugeordnet (Ö,D1,D2,P) und nachmittags zwischen 15³⁰ und 16³⁰ getötet.

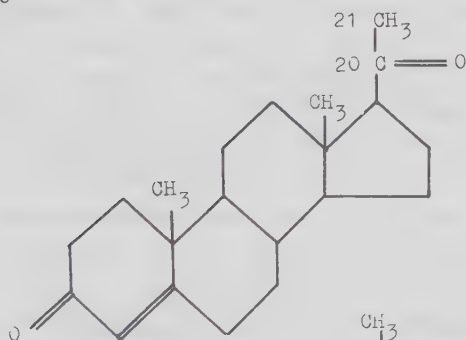
Behandelte Ratten und unbehandelte der verschiedenen Zyklusstadien werden im folgenden als Spendertiere bezeichnet.

Alle Spendertiere wurden in Käfigen mit trockener Sägemehleinstreue von 3 bis 17 Uhr unter künstlicher Beleuchtung gehalten und erhielten "Altromin"-Ratten-Pellets und Wasser ad libitum.

Testosteron



Progesteron



17 α -Äthiny1-19-nor-
testosteronazetat
(AETAT)

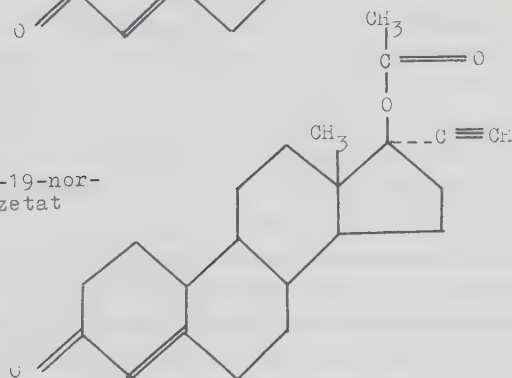


Abbildung 1

Die Spendertiere wurden entweder durch Chloroform getötet oder - zur Serumgewinnung - unter Äthernarkose durch Herzpunktion entblutet. Den durch Chloroform getöteten Ratten wurden sofort die Hypophysen entnommen. Ein Teil dieser Drüsen wurde nach der Entnahme zunächst in trockeneisgekühlte Gläser verbracht, bei -16°C aufbewahrt und später extrahiert. Ein anderer Teil der Drüsen in frischem Zustand sog. Empfängertieren unter Äthernarkose durch einen kleinen Abdominal-Schnitt hindurch intraperitoneal implantiert (s.u.).

Die Extraktion der Hypophysen erfolgte nach Paesi und de Jongh (1954). Die Drüsen einer jeweiligen Versuchsgruppe wurden mit Hilfe eines Potter-Elvehjem-Apparates in kaltem Azeton homogenisiert und dreimal in der Kälte mit 0,9 %iger Kochsalzlösung extrahiert. Anschließend wurde soweit mit Kochsalzlösung verdünnt, daß sich in je 6 ml Flüssigkeit das Äquivalent einer halben Spendertierhypophyse befand. Der Extrakt wurde bei -16°C aufbewahrt.

Das Spenderblut wurde nach der Gerinnung zentrifugiert; das Serum der zu einer Versuchsgruppe gehörenden Spendertiere wurde jeweils bei -16°C aufbewahrt.

In biologischen Testen wurden LH- und FSH-Aktivitäten in Hypophysenextrakten und Sera bestimmt und die LH- und FSH-Abgabebereitschaft intraperitoneal implantierter Hypophysen untersucht. Es wurde mit dem LH-Test nach Greep et al.(1941) und dem FSH-Test nach Paesi et al.(1951) gearbeitet. Für beide Teste wurden 30 - 40 g schwere juvenile hypophysektomierte Rattenböcke - Empfängertiere - benutzt.

Während der Hypophysektomie befanden sich die Empfängertiere in Äthernarkose. Unter einem Operationsmikroskop wurde durch median-longitudinale Inzision im Kieferwinkel die Mundbodenmuskulatur freigelegt, stumpf gespalten und die Schädelbasis unterhalb der sella turcica in einem kleinen Areal freigelegt. Nach Durchbohren der Schädelbasis und nach Inzision der dura mater lag die Hypophyse frei und konnte abgesaugt werden. Während der Operation auftretende Blutungen wurden mit Hilfe von Wachs gestillt und die Hautwunde nach der Operation geklammert.

Die Empfängertiere wurden in Käfigen mit Torfeinstreu von 8-17 Jhr unter künstlicher Beleuchtung und bei konstanter Raumtemperatur gehalten (20° - 24° C). Sie erhielten "Altromin"-Ratten-Pellets, wasser, 5 %ige Glucoselösung und Rinderpansen ad libitum.

Die für LH-Teste vorgesehenen Empfängertiere wurden am Tag 1 hypophysektomiert. Von Tag 2 bis 7 erhielten sie täglich subcutane Injektionen von Serum (zweimal 1 ml/d) oder Hypophysenextrakt (zweimal 0,5 ml/d; totale Dosis von Tag 2 bis 7: eine halbe Hypophyse), oder ihnen wurde am Tag 2 eine halbe Spendertierhypophyse intraperitoneal implantiert. Am Tag 8 wurden die Tiere mit Chloroform getötet. Das Gewicht ihrer von Fett- und Bindegewebe freiparierten ventralen Prostata wurde auf einer Torsionswaage (Genauigkeit: $\pm 0,01$ mg) bestimmt und als Maß für die verabreichten LH-Aktivitäten benutzt. - Empfängerkontrolltiere wurden in Extrakt- und Serumtesten mit 0,9 %iger Kochsalzlösung behandelt (Extraktionstest: zweimal 0,5 ml/d; Serumtest: zweimal 1 ml/d); in Implantationstesten wurden sie scheinoperiert.

Die für FSH-Teste vorgesehenen Empfängertiere wurden am Tag 1 hypophysektomiert und linksseitig orchidektomiert. Das Hodengewicht wurde auf einer Torsionswaage (Genauigkeit: $\pm 0,01$ mg) bestimmt. Von Tag 2 bis 7 erhielten sie täglich subcutane Injektionen von Hypophysenextrakt 2 mal 0,5 ml/d; totale Dosis von Tag 2-7: eine halbe Hypophyse), oder ihnen wurde am Tag 2 eine halbe Spendertierhypophyse intraperitoneal implantiert. Außerdem erhielt jedes Empfängertier täglich 20 I.E. HCG s.c. (Primogonyl, Schering AG; 10 I.E./0,1 ml 0,9 %ige Kochsalzlösung). Am Tag 8 wurden die Tiere mit Chloroform getötet. Das Gewicht des verbliebenen rechten Hodens wurde ermittelt. Die Gewichts Differenz zwischen linkem Hoden am Tag 1 und rechtem Hoden am Tag 8 bzw. die Hodengewichtszunahme von Tag 1 bis 8 galt als Maß für die verabreichten FSH-Aktivitäten. Empfängerkontrolltiere erhielten HCG (s.o.) und Kochsalzlösung (zweimal 1 ml/d, oder wurden scheinoperiert.

Am Ende der LH- und FSH-Testperiode wurde die Vollständigkeit der Hypophysektomie überprüft. Einen ersten Hinweis auf verbliebene Drüsenreste gab das hohe Körpergewicht der Empfängertiere,

sodann das Gewicht der Nebennieren. Nebennieren, die schwerer waren als 3 mg, deuteten auf Hypophysenreste hin. In allen Fällen wurde die sella der Tiere mit Hilfe eines Operationsmikroskopes auf Drüsenreste hin untersucht. Nicht vollständig operierte Tiere wurden verworfen.

In der folgenden tabellarischen Übersicht ist angegeben, welche LH- und FSH-Bestimmungen mit Spendertier-Empfängertier-Testen im einzelnen durchgeführt wurden.

LH-Versuche

Versuch 1

<u>Spendertiere</u>	weibliche Ratten; Körpergewicht: 180-200 g
behandelte Spendertiere	1 mg AENTA/d/100 g Kg
Kontrollen	unbehandelt; getötet am Nachmit- tag des vaginalen D1, D2, P, Ö
untersuchtes Spendertier- material	Hypophysen als Extrakte
<u>Empfängertiere</u>	männliche, juvenile, hypophys- ektomierte Ratten; Körpergewicht: 30 - 40 g
Menge des den Empfängertieren verabreichten Spendertierma- terials	2 x 0,5 ml Extrakt/d s.c.; totale Dosis von Tag 2 - 7: eine halbe Drüse
zusätzliche Behandlung der Empfängertiere	/
Empfängertier-Kontrollgruppe	0,9 % NaCl-Lösung; 2 x 0,5 ml/d
Maß für die den Empfängertie- ren verabreichte Gonadotropin- menge	Gewicht der ventralen Prostata am Tag 8

Versuch 2

<u>Spendertiere</u>	siehe Vers. 1
behandelte Spendertiere	" "
Kontrollen	" "
untersuchtes Spendertier- material	Serum

<u>Empfängertiere</u>	siehe Vers.1
Menge des den Empfängertieren verabreichten Spendertiermaterials	2 x 1 ml Serum/d s.c. von Tag 2-7
zusätzliche Behandlung der Empfängertiere	/
Empfängertier-Kontrollgruppe	siehe Vers.1
Maß für die den Empfänger-tieren verabreichte Gonadotropinmenge	" "
Versuch 3	
<u>Spendertiere</u>	siehe Vers.1
behandelte Spendertiere	" "
Kontrollen	unbehandelt; getötet am Nachmittag des vaginalen P
untersuchtes Spendertier-material	Hypophysen als intraperitoneale Implantate
<u>Empfängertiere</u>	siehe Vers.1
Menge des den Empfängertieren verabreichten Spendertiermaterials	eine halbe Drüse als Implantat von Tag 2-7
zusätzliche Behandlung der Empfängertiere	/
Empfängertierkontrollgruppe	Scheinoperation
Maß für die den Empfänger-tieren verabreichte Gonadotropinmenge	siehe Vers.1

FSH-Versuche

Versuch 4	
<u>Spendertiere</u>	siehe Vers.1
behandelte Spendertiere	" "
Kontrollen	" "
untersuchtes Spendertier-material	" "
<u>Empfängertiere</u>	männliche, juvenile, hypophysektomierte, unilateralorchidektomierte Ratten; Körpergewicht: 30 - 40 g

Menge des den Empfängertieren verabreichten Spendertiermaterials	siehe Vers.1
zusätzliche Behandlung der Empfängertiere	2 x 10 I.E. HCG/d s.c. von Tag 2-7
Empfängertier-Kontrollgruppe	siehe Vers.1 + 2 x 10 I.E. HCG/d
Maß für die den Empfänger-tieren verabreichte Gonado-tropinmenge	Hodengewichtszunahme von Tag 1-8

Versuch 5

<u>Spendertiere</u>	siehe Vers.1
behandelte Spendertiere	" "
Kontrollen	" "
untersuchtes Spendertier-material	" Vers.3
<u>Empfängertiere</u>	" Vers.4
Menge des den Empfängertieren verabreichten Spendertier-materials	" "
zusätzliche Behandlung der Empfängertiere	" "
Empfängertier-Kontrollgruppe	" "
Maß für die den Empfänger-tieren verabreichte Gonado-tropinmenge	" "

Parabiose-Teste

Versuch 6

In einem Vorversuch wurden juvenile Rattenböcke (40 - 50 g Kg) am Tag 1 hypophysektomiert und einer Testgruppe und einer Kontrollgruppe zugeteilt. Die Tiere beider Gruppen erhielten von Tag 2 - 7 zum Hodenwachstum ausreichende FSH- und LH-Mengen (FSH: ein in den Schering-Laboratorien hergestelltes Präparat, 2,5 mg/3 ml; 0,5 ml/d/Tier. LH: Primogonyl der Schering AG, 20 I.E./d/Tier). Die Tiere der Testgruppe erhielten außerdem jeweils 0,1 mg AENTA in öli-ger Lösung pro Tag. - Am 18.Tag nach der Hypophysektomie wurden die Hodengewichte der Tiere beider Gruppen ermittelt.

Versuch 7

In den Parabiosetesten selber wurde der Einfluß von AENTA auf die nach Kastration zu beobachtende FSH-Hypersekretion untersucht. Es wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten im Gewicht von 40 - 50 g verwendet. Am Tag 1 wurde ein Teil der Tiere hypophysektomiert (= Parabionten A) und am Tag 2 mit intakten Tieren (= Parabionten B) parabiontisch vereint. - Die Operation fand unter Äthernarkose statt. Die Bauchhöhle beider Tiere wurde seitlich von der Brust bis zum Becken hin durch Längsschnitt eröffnet, die entstandenen Bauchmuskulatur-Peritoneal-Lappen des einen Tieres mit den korrespondierenden Lappen des anderen zusammengenäht und die entstandenen Oberhautlappen beider Tiere miteinander verklammert. Die Wundzone wurde mit Kollodium bestrichen. Abschließend wurde Parabiont A linksseitig orchidektomiert und das Gewicht des Hodens auf einer Torsionswaage ermittelt (Genauigkeit: $\pm 0,01$ mg). Parabiont B wurde vollständig orchidektomiert.

Parabiont A wurde von Tag 3 bis 12 mit 2 x 10 I.E. HCG/d s.c. behandelt, Parabiont B von Tag 3 bis 12 mit AENTA in ölgiger Lösung und - in Kontrollgruppen nur mit Lösungsmittel (0,1 mg AENTA s.c./d; Lösungsmittel: Rizinusöl/Benzylbenzoat 5:1).

Am Tag 13 wurden die Tiere mit Chloroform getötet, das Hodengewicht von Parabiont A bestimmt und die Hodengewichtszunahme von Tag 2 - 13 ermittelt. Die Hodengewichtszunahme wurde als Maß für die von Parabiont B sezernierten FSH-Aktivitäten benutzt. - In Abb.2 ist die Versuchsanordnung für die Parabioseteste bildlich dargestellt.

Die Tiere des Vorversuchs und die Parabionten wurden bei künstlicher Beleuchtung von 8 - 17 Uhr und bei konstanter Raumtemperatur (20° - 24° C) in Käfigen mit Sägemehleinstreu gehalten. Die Tiere erhielten ad libitum: "Altromin"-Ratten-Pellets, Haferflocken, Wasser, 5 %ige Glucoselösung und Rinderpansen.

Die statistische Verarbeitung aller ermittelten Daten geschah nach Snedecor (1957). Dabei wurde der mittlere Fehler nach der Formel

$$s = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}}$$

berechnet und der Students t-Test (die Signi-

fikanzberechnung) nach der Formel

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{(n_1 + n_2) \cdot s^2}}$$

durchgeführt. Bei einem Irrtumsrisiko von 5 % ($p \leq 0,05$) galten unterschiedliche Werte als statistisch signifikant.

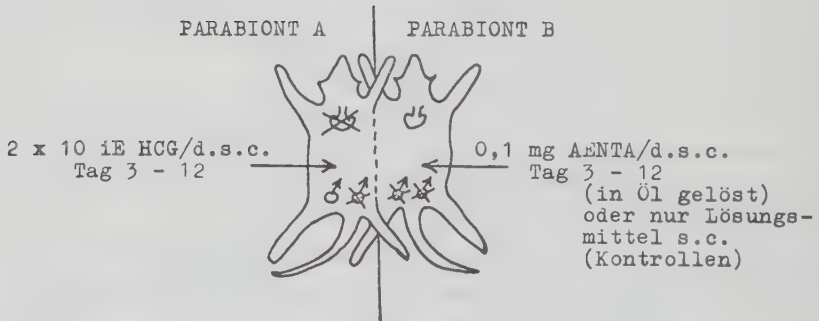


Abbildung 2 Versuchsanordnung im Parabiosetest
(nach Epstein et al. 1958)

ERGEBNISSE

Versuch 1: Bestimmung der LH-Aktivitäten in Hypophysenextrakten

Während des 1. Tages des Diöstrus, während des Proöstrus und während des Östrus lag der LH-Spiegel in den Hypophysenextrakten fast unverändert auf gleicher Höhe (D1: $13,63 \pm 0,77$ mg; P: $13,63 \pm 0,91$ mg; Ö: $13,35 \pm 0,63$ mg). Nur am 2. Tag des Diöstrus war die LH-Menge im Hypophysenextrakt erheblich höher als an den übrigen Tagen ($18,02 \pm 0,86$ mg). Die LH-Menge in Hypophysen AENTA-behandelter Tiere war gleich groß wie jene maximale LH-Menge, die während des 2. Tages des Diöstrus gemessen worden war ($17,58 \pm 0,82$ mg). Die zur Kontrolle nur mit Kochsalzlösung behandelten Empfängertiere zeigten extrem niedrige Prostatagewichte (um 5 mg). (Siehe Tabelle 1 und 1a; Abb.3.)

Versuch 2: Bestimmung der LH-Aktivitäten in Sera

Während des Proöstrus befand sich deutlich mehr LH im Serum ($12,37 \pm 0,68$ mg) als an den übrigen Zyklustagen (D1: $7,11 \pm 0,37$ mg; D2: $7,31 \pm 0,45$ mg; Ö: $9,36 \pm 0,56$ mg); der Serum-LH-Spiegel sank also vom Proöstrus über den Östrus bis zu seinem Minimum an den beiden Diöstrustagen ab. Nach der AENTA-Behandlung war die Serum-LH-Menge ebenso gering wie an den Diöstrustagen ($6,45 \pm 0,4$ mg). Bei mit Kochsalzlösung behandelten Empfängern finden sich nur sehr kleine Prostatawerte. (Siehe Tabelle 2 und 2a; Abb.3.)

Versuch 3: Bestimmung der LH-Abgabebereitschaft intraperitoneal implantierter Hypophysen

Aus den Hypophysen AENTA-behandelter Spendertiere wurde signifikant weniger LH abgegeben als aus den Hypophysen unbehandelter Tiere, die während des Proöstrus getötet worden waren (Behandelte: $13,06 \pm 0,53$ mg; P: $21,89 \pm 1,39$ mg). Scheinoperierte Empfängertiere (Kontrollen) hatten wiederum die üblicherweise sehr niedrigen Prostatagewichte. (Siehe Tabelle 3 und 3a)

SPENDERTIERE		EMPFÄNGERTIERE		
geschlechtsreife, weibliche Ratten 180 - 200 g KG		juvenile, männliche hypophysektomierte Ratten; 30 - 40 g KG		
		Zahl	Behandlung	ventr.Prostata(mg)
unbehandelt; Zyklusstadium am Tage der Autopsie	D1	12	Hypophysen- Extrakte; totale Dosis: 1/2 Drüse d2 - d7	13,63 $\pm$ 0,77
	D2	13		18,02 $\pm$ 0,86
	P	7		13,63 $\pm$ 0,91
	Ö	11		13,35 $\pm$ 0,63
AENTA, 1 mg/100 g KG; d1-d12		19		17,58 $\pm$ 0,82
/		7	Salz	5,24 $\pm$ 0,6

Tabelle 1 LH-Gehalt von Hypophysenextrakten

Gewicht der ventralen Prostata von juvenilen, männlichen hypophysektomierten Ratten (als Parameter für die Menge der verabreichten LH-Aktivitäten) nach subcutaner Applikation von Extrakten aus Hypophysen geschlechtsreifer weiblicher Ratten.

D1 = erster Tag des Diöstrus
D2 = zweiter Tag des Diöstrus
P = Proöstrus
Ö = Östrus

	D 1	D 2	P	Ö	AENTA
D 2	+				
P	-	+			
Ö	-	+	-		
AENTA	+	-	+	+	
Salz	+	+	+	+	+

Tabelle 1a : + Unterschiede galten bei einem Irrtumsrisiko von 5% (p $\leq$ 0,05) als statistisch gesichert.

SPENDERTIERE		EMPFÄNGERTIERE		
geschlechtsreife weibliche Ratten 180 - 200 g KG		juvenile, männliche hypophysektomierte Ratten; 30 - 40 g KG		
		Zahl	Behandlung	ventr.Prostata(mg)
unbehandelt; Zyklusstadium am Tage der Autopsie	D1	17	Serum 2 ml/Tag d2 - d7	7,11 $\pm$ 0,37
	D2	17		7,31 $\pm$ 0,45
	P	9		12,37 $\pm$ 0,86
	Ö	10		9,36 $\pm$ 0,65
AENTA, 1mg/100 g KG; d1-d12		19	Salz	6,45 $\pm$ 0,4
/		7		5,24 $\pm$ 0,6

Tabelle 2 LH-Gehalt von Sera

Gewicht der ventralen Prostata von juvenilen, männlichen hypophysektomierten Ratten (als Parameter für die Menge der verabreichten LH-Aktivitäten) nach subcutaner Applikation von Serum geschlechtsreifer weiblicher Ratten.

D1, D2, P und Ö: siehe Tabelle 1

	D 1	D 2	P	Ö	AENTA
D 2	-				
P	+	+			
Ö	+	+	+		
AENTA	-	-	+	+	
Salz	+	+	+	+	-

Tabelle 2a : + Unterschiede galten bei einem Irrtumsrisiko von 5% ($p \leq 0,05$) als statistisch gesichert.

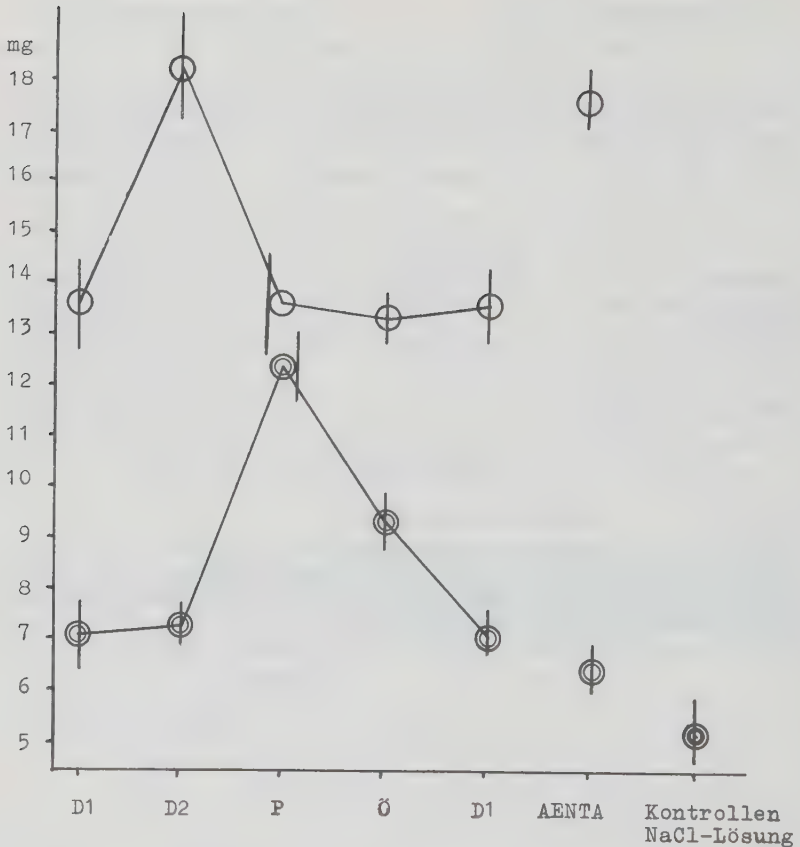


Abbildung 3 LH-Gehalt von Hypophysenextrakten und Sera

⊙ Extraktionstest. Subcutane Verabreichung von Hypophysenextrakten geschlechtsreifer, weiblicher Ratten (Spendertiere) an juvenile, männliche hypophysektomierte Ratten (Empfängertiere).

○ Serumtest. Subcutane Verabreichung von Spender-tier-Serum an Empfängertiere. Hypophysenextrakt und Serum von Spendern der verschiedenen Zyklus-stadien (D1 = 1.Tag des Diöstrus; D2 = 2.Tag des Diöstrus; P = Proöstrus; Ö = Östrus) und von AENTA-behandelten Spendern (AENTA). In Kontrollgruppen wurde den Empfängern nur Kochsalzlösung injiziert (Kontrollen).

Das Gewicht der ventralen Prostata (auf der Ordinate in mg aufgetragen) gilt als Index für die mit dem Material injizierten LH-Aktivitäten.

SPENDERTIERE	EMPFÄNGERTIERE		
geschlechtsreife, weibliche Ratten 180 - 200 g KG	juvenile, männliche hypophysektomierte Ratten; 30 - 40 g KG		
	Zahl	Behandlung	ventr.Prostata(mg)
unbehandelt; Zyklussta- dium am Tage der Autopsie: P	10	intra- peritoneale Implantation einer halben Hypophyse	$21,89 \pm 1,39$
AENTA, 1mg/100g KG; d1-d12	17		$13,06 \pm 0,53$
/	4	Schein-Op.	$6,48 \pm 0,94$

Tabelle 3 Von intraperitoneal implantierten Hypophysen
freigegebene LH-Aktivitäten

Gewicht der ventralen Prostata von juvenilen männlichen hypophysektomierten Ratten als Parameter für die von den implantierten Drüsen freigegebenen LH-Aktivitäten nach 7-tägiger Implantation einer halben Hypophyse geschlechtsreifer, weiblicher Ratten.

P = Proöstrus

p ist jeweils kleiner als 0,001.

Versuch 4: Bestimmung der FSH-Aktivitäten in Hypophysenextrakten

Während des 1. und 2. Tages des Diöstrus und während des Östrus war die FSH-Menge in Hypophysenextrakten gleich (D1: $35,5 \pm 2,87$ mg; D2: $34,71 \pm 3,16$ mg; Ö: $32,76 \pm 4,37$ mg). Nur während des Proöstrus sank der FSH-Spiegel deutlich ab ($25,3 \pm 3,99$ mg). Die Hypophysen AENTA-behandelter Spendertiere enthielten sehr viel FSH ($52,69 \pm 2,95$ mg). Mit Kochsalzlösung behandelte Empfängertiere (Kontrollen) zeigten nur eine minimale Hodengewichtszunahme von $2,14 \pm 2,28$ mg. (Siehe Tabelle 4 und 4a; Abb.4)

Versuch 5: Bestimmung der FSH-Abgabebereitschaft intrapertoneal implantierter Hypophysen

Die FSH-Abgabebereitschaft implantierter Hypophysen war während des 2.Tages des Diöstrus am geringsten ($41,57 \pm 5,32$ mg) Sie nahm während des Proöstrus ($55,72 \pm 4,07$ mg) und Östrus ($59,2 \pm 6,53$ mg) langsam zu und erreichte ihr Maximum am 1.Tag des Diöstrus ($81,33 \pm 3,91$ mg). Die FSH-Abgabebereitschaft der Hypophysen AENTA-behandelter Spendertiere lag etwa im Bereich des für den 2.Diöstrus-tag ermittelten Minimums ($52,75 \pm 5,15$ mg) Scheinoperierte Empfängertiere (Kontrollen) hatten keine Hodengewichtszunahme. (Siehe Tabelle 5 und 5a; Abb.4)

Versuch 6: Vorversuch zu den Parabiose-Testen

Hypophysektomierte, juvenile Rattenböcke hatten nach 6-tägiger Behandlung mit Gonadotropinen (FSH und LH) und AENTA ein Hodengewicht von $70,37 \pm 5,09$ mg. Böcke, die nur mit Gonadotropinen behandelt worden waren, hatten praktisch das gleiche Hodengewicht ($77,33 \pm 4,08$ mg).

SPENDERTIERE		EMPFÄNGERTIERE		
geschlechtsreife, weibliche Ratten 180 - 200 g KG		juvenile, männliche hypophysektomierte unilat. kastrierte Ratten; 30 - 40 g KG		
		Zahl	Behandlung	Hodengewichtszu- nahme (mg) d1 - d8
unbehandelt; Zyklusstadium am Tage der Autopsie	D1	14	Hypophysen- Extrakte; totale Dosis: 1/2 Drüse d2 - d7 + 20 IE HCG /d	35,5 ± 2,87
	D2	14		34,71 ± 3,16
	P	13		25,30 ± 3,99
	Ö	13		32,76 ± 4,37
AENTA, 1mg/100g KG; d1 - d12		26		52,69 ± 2,95
/		7	Salz	2,14 ± 2,8

Tabelle 4 FSH-Gehalt von Hypophysenextrakten

Hodengewichtszunahme in juvenilen, männlichen, hypophysektomierten unilateral kastrierten Ratten nach subcutaner Applikation von Extrakten aus Hypophysen geschlechtsreifer weiblicher Ratten.

D1, D2, P und Ö: siehe Tabelle 1.

	D 1	D 2	P	Ö	AENTA
D 2	-				
P	+	+			
Ö	-	-	-		
AENTA	+	+	+	+	
Salz	+	+	+	+	+

Tabelle 4a: + Unterschiede galten bei einem Irrtumsrisiko von 5% ($p \leq 0,05$) als statistisch gesichert.

SPENDERTIERE		EMPFÄNGERTIERE		
geschlechtsreife weibliche Ratten 180 - 200 g KG		juvenile männliche hypophysesektomierte unilat. kastrierte Ratten; 30 - 40 g KG		
		Zahl	Behandlung	Hodengewichtszunahme (mg) d1 - d8
unbehandelt; Zyklusstadium am Tage der Autopsie	D1	6	intra- peritoneale Implantation einer halben Hypophyse + 20 IE HCG/d	81,33 $\pm$ 3,91
	D2	14		41,57 $\pm$ 5,32
	P	11		55,72 $\pm$ 4,07
	Ö	15		59,2 $\pm$ 6,53
AENTA, 1mg/100g KG; d1-d12		8		52,75 $\pm$ 5,15
/		9	Schein-Op.	6,9 $\pm$ 4,85

Tabelle 5 Von intraperitoneal implantierten Hypophysen freigegebene FSH-Aktivitäten

Hodengewichtszunahme in juvenilen, männlichen, hypophysesektomierten unilat. kastrierten Ratten (als Parameter für die verabreichten FSH-Aktivitäten) nach 7-tägiger Implantation einer halben Hypophyse geschlechtsreifer weiblicher Ratten.

D1, D2, P und Ö: siehe Tabelle 1

	D 1	D 2	P	Ö	AENTA
D 2	+				
P	+	-			
Ö	-	+	-		
AENTA	+	-	-	-	
Schein-Op.	+	+	+	+	+

Tabelle 5a: + Unterschiede galten bei einem Irrtumsrisiko von 5% ($p \leq 0,05$) als statistisch gesichert.

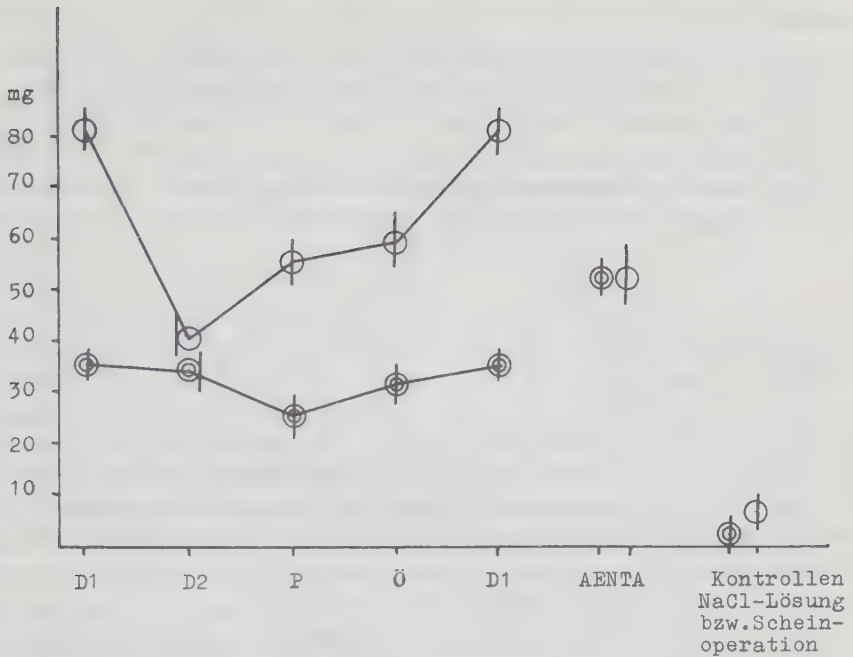


Abbildung 4

● Implantationstest. Intraperitoneale Implantation jeweils einer halben Hypophyse geschlechtsreifer weiblicher Ratten (Spendertiere) in juvenile, männliche, hypophys-ektomierte und unilateral kastrierte Ratten (Empfängertiere).

⊙ Extraktionstest. Subcutane Verabreichung von Extrak-ten aus Spender-Hypophysen an Empfängertiere.

Hypophysen und Hypophysenextrakte von Spendern der verschiedenen Zyklusstadien (D1 = 1.Tag des Diöstrus; D2 = 2.Tag des Diöstrus; P = Proöstrus; Ö = Östrus). Kontrollen: Injektion von Kochsalz-lösung in die Empfängertiere; Scheinoperation der Tiere.

Die Hodengewichtszunahme von d1 - d8 (auf der Ordinate in mg aufgetragen) gilt als Index für die mit dem Extrakt verabreich-ten oder durch die implantierten Drüsen freigesetzten FSH-Akti-vitäten.

Versuch 7: Parabiose-Teste

Die hypophys-hemiorchidektomierten Tiere (Parabionten A), deren parabiontisch verbundenen, orchidektomierten Partner (Parabionten B) mit AENTA behandelt worden waren, zeigten am Ende der Testperiode eine Hodengewichtszunahme von $104 \pm 4,11$ mg. Die Hodengewichtszunahme von Parabionten A jedoch, deren Partner unbehandelt geblieben waren, belief sich auf $214,66 \pm 13,71$ mg.

DISKUSSION

Die LH-Sekretion

Aus Abbildung 3 wird deutlich, daß in unbehandelten Ratten, die an verschiedenen Zyklustagen getötet worden waren, eine umgekehrt-proportionale Beziehung zwischen Serum-LH-Gehalt und Hypophysen-LH-Gehalt besteht; d.h. wenn im Serum der LH-Spiegel hoch ist, ist er in der Hypophyse niedrig und vice versa.

Diese Angaben über den hypophysären LH-Gehalt befinden sich in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Gans und de Jongh (1959) und van der Werff ten Bosch et al. (1962).

Das Verhalten des Serum-LH-Spiegels an den verschiedenen Stadien des Zyklus wurde ebenfalls von van der Werff ten Bosch et al. untersucht. Dabei ließen sich maximale LH-Werte am Tage des vaginalen Diöstrus 2 beobachten. Dieses Ergebnis konnte hier jedoch nicht bestätigt werden: der höchste, während des Zyklus auftretende Serum-LH-Spiegel wurde nicht am Diöstrus 2 sondern am Proöstrus bestimmt.

Die Angaben der vorliegenden Arbeit über den Serum-LH-Gehalt während des Zyklus stehen in Einklang mit den Beobachtungen von McCann und Ramirez (1964). Die Autoren benutzten einen modifizierten OAAD-Test. (Ovarian ascorbic acid depletion test; Testmethode für LH; nach Parlow 1958). Das Hormon konnte dabei zum Zeitpunkt des vaginalen Proöstrus, nicht aber an den übrigen Zyklustagen im Serum nachgewiesen werden.

Aus Implantationstesten (siehe später) von Gans und de Jongh (1959) geht hervor, daß die Hypophyse am Proöstrustag weitaus mehr LH freisetzt als an den übrigen drei Zyklustagen. Diese verstärkte LH-Abgabe dürfte den hohen Serum-LH-Gehalt am Proöstrustag erklären.

Die Feststellung eines am Proöstrustag liegenden Maximums der LH-Menge im Serum befindet sich auch in Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen der Arbeitsgruppe um Everett. An diesem Zyklustag - zwischen 14 und 16 Uhr - wird die Adenohypophyse der weiblichen geschlechtsreifen Ratte auf neurohumoralem Wege zur plötzlichen Sekretion von "Ovulationshormon" angeregt. Kommt es vor Beginn dieser "kritischen Periode" zur Unterdrückung des neurohumoralen Reizes, oder zur Entfernung der Hypophyse, so unterbleibt die Ausschüttung von "Ovulationshormon" und die Ovulation selber wird verhindert. Entsprechende Eingriffe sind nach Ablauf der "kritischen Periode" ohne Effekt auf den Eisprung (Everett et al. 1949; Everett 1956; Everett und Harp 1960). Die Autoren sind der Meinung, daß es sich bei dem erwähnten "Ovulationshormon" hauptsächlich um LH handele. Spezifische Gonadotropin-Teste wurden allerdings nicht durchgeführt.

Nach AENTA-Behandlung ist die Serum-LH-Menge hochgradig reduziert. Eine Herabsetzung des hypophysären LH-Gehaltes konnte nach der Behandlung mit dem Steroid nicht beobachtet werden. Die Hormonmenge in der Hypophyse ist sogar erhöht gegenüber dem Hormonspiegel, der an den Tagen des vaginalen Diöstrus 1, Proöstrus und Östrus nachgewiesen wurde. Gleich hohe LH-Aktivitäten finden sich in den Hypophysen nach AENTA-Behandlung der Spendertiere und in den Hypophysen, die am Tage des vaginalen Diöstrus 2 den unbehandelten Spendern entnommen worden waren; am Diöstrus 2 ist die Hypophyse reicher an LH als an den übrigen Zyklustagen. Offenbar kommt es nach der Steroidabgabe zu geringgradiger "Hormonstapelung" in der Hypophyse.

In den Implantationstesten der vorliegenden Arbeit wurde folgendes beobachtet:

1. Die implantierten Hypophysen setzten LH frei, denn scheinoperierte Tiere zeigten im Gegensatz zu Tieren mit Implantaten kein

Prostatatawachstum.

2. Die Abgabebereitschaft von Hypophysen aus behandelten Spender-tieren war deutlich herabgesetzt - verglichen mit der Abgabebereit-schaft von Drüsen, die unbehandelten Spendern am Foöstrustag ent-nommen worden waren.

Die reduzierte LH-Abgabebereitschaft der Hypophyse nach AENTA-Behandlung könnte die durch AENTA herabgesetzte Serum LH-Menge erklären.

Das zeigt wiederum, daß die Implantationsmethode durchaus brauch-bare Resultate liefert. Weitere Erkenntnisse über die Beziehungen zwischen Hypophyse und Hypothalamus und über die Regulation der glandotropen Hormonsekretion durch das Zentralnervensystem sind abzuwarten, um die Aussagekraft der Implantationsteste besser beurteilen zu können.

Wie schon erwähnt, ist die LH-Abgabebereitschaft der Hypophyse nach AENTA-Behandlung gehemmt; sie ist aber nicht völlig aufgehoben. Eine nicht völlig aufgehobene LH-Abgabe ließe erwarten, daß das Hormon im Serum durchaus nachweisbar bliebe. Die Serum-LH-Menge ist aber nach AENTA-Behandlung so stark reduziert, daß im LH-Test die ventrale Prostata der Empfängertiere nicht mehr meßbar stimu-liert wird. Die Tatsache, daß LH-Aktivitäten im Serum nicht nach-weisbar sind, obwohl die Hypophyse noch Hormon ausschüttet, könn-te folgende Ursache haben: bei Implantationsversuchen handelt es sich um intraperitoneale Verabreichung von LH. Im Serum-Test da-gegen wird das Material subcutan appliziert. Bei subcutaner Ver-abreichung jedoch ist die Schwellendosis für LH viermal höher gelegen als bei intraperitonealer Gabe (Jensen et al. 1939). Dement-sprechend könnte in intraperitoneal verabreichtem Serum LH mög-licherweise noch nachweisbar sein.

Würde AENTA nur die LH-Abgabe durch die Hypophyse, nicht aber auch die LH-Neubildung beeinflussen, so wäre bei der beobachteten starken Reduzierung der Abgabe die LH-Menge in der Drüse wahr-scheinlich auf sehr hohe Werte angestiegen. Der hypophysäre LH-Gehalt ist aber nur geringfügig gesteigert. Das spricht für eine durch AENTA-Behandlung gehemmte Neubildung von LH.

Die FSH-Sekretion

Die Angaben über den Hypophysengehalt unbehandelter weiblicher Ratten bestätigen die Ergebnisse von Gans et al.(1964). Die Autoren konnten ebenfalls am Proöstrus einen Abfall des FSH-Spiegels in der Hypophyse nachweisen. Die FSH-Abgabebereitschaft der Drüse an verschiedenen Zyklustagen ist wohl von anderen Autoren mit Implantationstesten noch nicht untersucht worden.

Während am Nachmittag des Proöstrus, also kurz vor der Ovulation, die stärkste LH-Abgabe durch die Hypophyse statthat (Gans und de Jongh 1959) kommt es am Diöstrus 1 zur vermehrten FSH-Freisetzung; wahrscheinlich ist diese zu Beginn der Follikelphase des Zyklus auftretende hohe FSH-Sekretion für die Prozesse der Eireifung bedeutungsvoll.

Es ist bemerkenswert, daß die Hypophysenextrakte - verglichen mit der Abgabebereitschaft der Drüse bei intraperitonealer Implantation - relativ wenig FSH enthalten. Möglicherweise wird das Hormon während der Zubereitung des Homogenates und während dessen Aufbewahrung zu einem gewissen Grade zerstört. Auch ist es denkbar, daß intraperitoneal verabreichtes FSH stärker wirksam ist als subcutan injiziertes. Letzteres konnte von Jensen et al.(1939) für LH, nicht jedoch für FSH nachgewiesen werden. Gans et al. (1964) fanden in Hypophysenextrakten weiblicher Ratten FSH-Mengen, die etwa denen entsprechen, die in der vorliegenden Arbeit ermittelt wurden.

Nach AENTA-Behandlung ist die FSH-Abgabe der Hypophyse deutlich eingeschränkt. Der FSH-Gehalt der Drüse jedoch ist gegenüber allen Kontrollgruppen stark erhöht. Es kommt also durch das Steroid zur "Auffüllung der Hormonspeicher". Da aber die "Speicherungskapazität" der Hypophyse für FSH sehr wahrscheinlich nicht unbegrenzt ist, müßte neben der reduzierten FSH-Abgabe durch die Drüse auch die FSH-Neubildung gehemmt werden. Möglicherweise blockiert AENTA primär nur die FSH-Abgabe, nicht aber die FSH-Neubildung. Es resultiert daraus ein hoher Hormonspiegel im Organ, der dann seinerseits die Hormon-Neubildung einschränkt. Das würde einen "intern feed-back mechanism" voraussetzen; d.h. die Höhe des Gonadotropinspiegels in der Hypophyse oder im Hypophysen-

Zwischenhirn-System reguliert die weitere Hormon-Neubildung (Szontagh und Uhlarik 1964; Corbin und Cohen 1966; David et al. 1966).

Bei behandelten Parabionten kam es im Parabionten A zu weitaus geringerem Hodenwachstum als bei unbehandelten Parabionten. Generell wird das Hodenwachstum von LH und FSH beeinflusst (Greep et al. 1940; Greep et al. 1942; Woods und Simpson 1961). Da aber im Parabiosetest dieser Arbeit sowohl behandelte als auch unbehandelte Parabionten LH (HCG) im Überschuß erhielten (20 I.E./d), kann angenommen werden, daß das unterschiedliche Hodenwachstum der Parabionten A in behandelten und unbehandelten Gruppen nicht durch unterschiedliche LH-Mengen bedingt ist (v. Rees 1964; Gans und van Rees 1966).

Auch das Steroid AENTA selber übt keinen direkten Einfluß auf das Hodenwachstum aus, wie aus dem Vorversuch zu den Parabiosetesten hervorgeht.

Somit kann das unterschiedliche Hodenwachstum in den Parabionten A aus behandelten und unbehandelten Gruppen auf wahrscheinlich unterschiedliche FSH-Mengen zurückgeführt werden. Die Hypophyse AENTA-behandelter Parabionten B dürfte weniger FSH freisetzen als die Drüse unbehandelter Parabionten B.

Mit den Versuchsmethoden dieser Arbeit wurde wahrscheinlich gemacht, daß das Gestagen AENTA - oder einer seiner Metaboliten (Miyake 1961; Langecker 1961; Breuer 1964) - die hypophysäre LH- und FSH-Sekretion hemmt. Damit erhebt sich die Frage nach der Lokalisation jener Strukturen, die die Gonadotropinsekretion regulieren. Umfangreiche Untersuchungen über die Physiologie des Hypophysen-Zwischenhirn-Systems haben erbracht, daß die Sekretion glandotroper Hormone durch die Hypophyse vom übergeordneten Zwischenhirn aus reguliert wird. (Taleisnik und McCann 1961; Bunn und Everett 1957; Nikitovitch-Winer und Everett 1958/9; Sawyer 1959; Corbin und Chen 1966; Harris 1961). Es ist daher anzunehmen, daß das Steroid AENTA weniger an der Hypophyse selber angreift, als vielmehr steroidempfindliche, hypothalamische Strukturen (Ramirez et al. 1963) beeinflusst, die dann ihrerseits eine Änderung der Gonadotropinsekretion durch die Hypophyse veranlassen.

Die Art der AENTA-bedingten Störung der Gonadotropinsekretion ist wahrscheinlich nicht typisch für alle Gestagene, die als orale Kontrazeptiva Verwendung finden. Im Gegensatz zu AENTA senkt z.B. Norethynodrel den hypophysären Gonadotropinspiegel, Lynestrenol den hypophysären LH-Spiegel (Saunders und Drill 1958; Szontágh 1963). Lynestrenol und 6 α -Methyl-Lynestrenol entwickeln - nach Ansicht von Overbeek und de Visser (1964 b) - jeweils unterschiedliche Änderungen der FSH- und LH-Sekretion.

Die unter AENTA-Behandlung zu beobachtende Hemmung der FSH- und LH-Sekretion ist wahrscheinlich nicht ohne Einfluß auf die Funktion des Ovars. Sowohl Follikelreifung als auch Ovulation werden durch die beiden Gonadotropine stimuliert (Greep et al. 1942; Gaarenstroom und de Jongh 1946; Carter et al. 1961). Eine Reduzierung der Gonadotropinsekretion kann also durchaus für die antiovulatorische Wirksamkeit der Gestagene ursächlich sein.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die gonadotrope Hypophysenfunktion der Ratte unter dem Einfluß von 17 α -Aethinyl-19-nortestosteronazetat(AENTA) untersucht.

Serum- und Hypophysengehalt an LH und die Abgabebereitschaft intraperitoneal implantierter Hypophysen für LH und FSH wurde bei behandelten und unbehandelten Tieren bestimmt. - Es konnten zyklisch auftretende Intensitätsschwankungen der hypophysären Gonadotropinsekretion beobachtet werden. Der höchste Serum-LH-Spiegel lag am Proöstrustag, der niedrigste an den beiden Diöstrustagen. Maximaler Hypophysengehalt fand sich am 2.Tag des Diöstrus. Nach der Steroidbehandlung war LH im Serum praktisch nicht mehr feststellbar. Gleichzeitig lag der hypophysäre LH-Spiegel ebenso hoch wie während des 2.Diöstrustages. Die LH-Abgabebereitschaft intraperitoneal implantierter Hypophysen war nach der Behandlung reduziert - verglichen mit der Abgabebereitschaft von Hypophysen, die unbehandelten Spendertieren am Proöstrustag entnommen worden waren. - Der hypophysäre FSH-Spiegel lag an beiden Diöstrustagen und am Östrustag auf etwa gleicher Höhe; am Proöstrustag war er erniedrigt. Das Maximum der FSH-Abgabebereitschaft intraperitoneal implantierter Hypophysen konnte am 1.Tag des Diöstrus, das Minimum am 2.Tag des Diöstrus beobachtet werden. Der FSH-Spiegel in Hypophysen behandelter Spendertiere lag höher als in Hypophysen unbehandelter Spendertiere; die Abgabebereitschaft war nach der Behandlung reduziert - verglichen mit den am 1.Tag des Diöstrus festgestellten Werten.

An parabiontisch vereinigten, juvenilen männlichen Ratten wurde die Wirkung einer AENTA-Behandlung auf die nach Kastration eines der beiden Parabionten auftretende Gonadotropin-Hypersekretion ermittelt.- Dabei wurde ein Parabiont vollständig orchidektomiert und mit AENTA oder -in Kontrollgruppen- nur mit Lösungsmittel behandelt; der andere Parabiont wurde hemiorchidektomiert und hypophysektomiert und mit täglich 20 I.E. HCG behandelt. Die hemiorchid-hypophysektomierten Tiere, deren parabiontisch verbundenen orchidektomierten Partner mit dem Steroid behandelt worden waren,

zeigten ein geringeres Hodenwachstum als Tiere, deren orchidektomierte Partner nur Lösungsmittel erhalten hatten. Das Hodenwachstum der hemiorchid-hypophysektomierten Parabionten galt als Maß für die vom orchidektomierten Partner freigesetzten FSH-Mengen.

Eine Hemmung der hypophysären LH- und FSH-Sekretion durch das Steroid konnte nachgewiesen werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- Anderson, R.R. and McShau, W.H.: Luteinizing hormone levels in pig, cow and rat blood plasma during the estrous cycle. *Endocrinology* 78: 976; 1966.
- Bell, E.T.; Mukerji, S.; Loraine, J.A. and Lunn, S.F. The relationship of gonadotrophin excretion to a ovulation during the menstrual cycle. *Acta endocrin.* 51: 578; 1966.
- Bogdanove, E.M.; Spirtos, B.N.; Halmi, N.S.: Further observations on pituitary structure and function in rats bearing hypothalamic lesions. *Endocrinology* 57: 302; 1955.
- Breuer, H.: Studies on the metabolism of 17α -ethinyl-19-nortestosterone. *Internat. J. Fertil.* 9,1: 181; 1964.
- Brown, J.B.; Fotherby, K. and Loraine, J.A.: The effect of 17α -ethinyl-19-nortestosterone (Norethisterone) on the urinary excretion of estrogen, pregnanediol and gonadotrophins during the menstrual cycle. *Proc. Roy. Soc. Med.* 53: 431; 1960.
- Brown, J.B.; Fotherby, K. and Loraine, J.A.: The effect of norethisterone and its acetate on ovarian and pituitary function during the menstrual cycle. *J. Endocrinol.* 25: 331; 1962/63.
- Brown, P.S.; Wells, M. and Cunningham, F.J.: A method for studying the mode of action of oral contraceptives. *Lancet* 7357: 446; 1964.
- Buchholz, R.; Nocke, L. and Nocke, W.: The influence of gestagens on the urinary excretion of pituitary gonadotropins, estrogens, and pregnanediol in women in the postmenopause and during the menstrual cycle. *Internat. J. Fertil.*
- Buchholz, R.; Nocke, L. and Nocke, W.: The influence of gestagens on the urinary excretion of pituitary gonadotropins, estrogens, and pregnanediol in women in the postmenopause and during the menstrual cycle. *Internat. J. Fertil.* 9,1: 231; 1964.
- Bunn, J.P. and Everett, J.W.: Ovulation in persistent estrous rats after electrical stimulation. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 96: 369; 1957.
- Carter, F.; Woods, M.C. and Simpson, M.E.: The role of pituitary gonadotropins in induction of ovulation in the hypophysectomized rat. In: *Control of Ovulation.* ed. by C.A. Vilee; Pergamon Press, Oxford 1961: 1.
- Clini, V.; Baldratti, G. and Sala, G.: 4-chlorotestosterone-acetate and gonadotrophins. *Experientia* 14: 94; 1957.

- Corbin, A. and Cohen, A.I.: Effect of median eminence implants of LH on pituitary LH of female rats. *Endocrinology* 78: 41; 1966.
- David, M.A.; Fraschini, F. and Martini, L.: Control of LH-secretion: role of a short feed-back mechanism. *Endocrinology* 78: 55; 1966.
- Diczfalussy, E. und Heinrichs, H.D.: Gonadotropine und ihre Bestimmung. *Arch.Gynäk.* 187: 556; 1956.
- Dukes, M.N.G.: Physiologische Betrachtungen zur Frage der oralen Empfängnisverhütung. *Schweiz.Apoth.Ztg.* 101, 14: 117; 1963.
- Eckstein, P. and Mandl, A.: Effect of norethynodrel on the ovarian response of the immature rat to gonadotrophic stimulation. *Endocrinology* 71: 964; 1962.
- Edgren, R.A.: Oestrogen antagonisms: the effect of testosterone-propionate and 17 α -ethyl-19-nortestosterone on oestrone-induced changes in vaginal cytology. *Acta endocrin.* 25: 365; 1957.
- Edgren, R.A.: The uterin growth-stimulating activities of 17 α -ethinyl-17-hydroxy-5(10)-estren-3-one (Norethynodrel) and 17 α -ethinyl-19-nortestosterone. *Endocrinology* 62: 689; 1958.
- Edgren, R.A.: The modification of estrogen-induced changes in rat vaginas with steroids and related agents. *Annals of the New York Academy of Science.* 83: 160; 1959.
- Edgren, R.A. and Carter, D.L.: Failure of various steroids to block gonadotrophin-induced ovulation in rabbits. *J. Endocrinol.* 24: 525; 1962.
- Ellis, S.: Bioassay of luteinizing hormone. *Endocrinology* 68: 334; 1961.
- Emmens, C.W.1961; siehe Martin, L. and Cuninghame, K.1961.
- Endröczy, L. and Hilliard, J.: Luteinizing hormone releasing activity in different parts of rabbit and dog brain. *Endocrinology* 77: 667; 1965.
- Epstein, J.A.; Kupperman, H.S. and Cutler, A.: Comparative pharmacological and clinical activity of 19-nortestosterone and 17-hydroxyprogesterone derivatives in man. *Annals of the New York Academy of Science.* 71: 560; 1958.
- Everett, J.W.: The time of release of ovulating hormone from the rat hypophysis. *Endocrinology* 59: 580; 1956.

- Everett, J.W. and Harp, J.R.: Electrical induction of ovulation in the rat and the question of the natural neurogenous stimulus. *Acta endocrin. Suppl.* 51: 7; 1960.
- Everett, J.W.; Sawyer, C.H. and Markee, J.E.: A neurogenic timing factor in control of ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cyclic rat. *Endocrinology* 44: 234; 1949.
- Falcony, G. and Bruni, G.: Studies on steroidal enol ethers: antigonadotrophic activity of cyclopentyl derivatives of some orally active progestins. *J. Endocrinol.* 25: 169; 1962.
- Ferin, J.: A new substance with progestional activity. *Acta endocrin.* 22: 303; 1956.
- Ferin, J.: 1961. zit. nach Dukes, M.N.G. 1963.
- Ferin, J.: Hypoestrogenic ammenorrhea and / or sterility induced by Lynestrenol. *Internat. J. Fertil.* 9,1: 29; 1964.
- Finerty, J.C.: Parabiosis in physiological studies. *Physiol. Rev.* 32: 277; 1952.
- Gaarenstroom, J.A. and de Jongh, S.E.: A contribution to the knowledge of the influence of gonadotropic and sex hormones on the gonads of rats. In: *Monographs on Progress of Research in Holland.* 7; 1946.
- Gans, E. and de Jongh, S.E.: Fluctuations in the ICSH-supply of the body synchronous with the oestrous cycle. *Acta physiol. pharmacol. Neerlandica* 8: 501; 1959.
- Gans, E.; de Jongh, S.E.; van Rees, G.P.; van der Werff ten Bosch, J.J. and Wolthuis, O.L.: Cyclic variations in the hypophyseal FSH-content in the female rat. *Acta endocrin.* 45: 335; 1964.
- Gans, E. and van Rees, G.P.: Studies on the testicular augmentation assay method for follicle stimulating hormone. *Acta endocrin.* 52: 573; 1966.
- Garcia, C.R. and Pincus, G. Ovulation inhibition by progestin-estrogen combination. *Internat. J. Fertil.* 9,1: 95; 1964.
- Garcia, C.R.; Pincus, G. and Rock, J.: Effects of three 19-norsteroids on human ovulation and menstruation. *Amer. J. Obsttr. Gynec.* 75,1: 82; 1958.
- Goldman, J.N.; Epstein, J.A. and Kupperman, H.S.: A comparison of pituitary-inhibiting, anabolic and androgenic effects of Norethandrolone in the parabiotic rat. *Endocrinology* 61: 166; 1957.

- Greep, R.O.; van Dyke, H.B. and Chow, B.F.: The effect of pituitary gonadotrophins on the testicles of hypophysectomized immature rats. *Anat. Record.* 78: 88; 1940.
- Greep, R.O.; van Dyke, H.B. and Chow, B.F.: Use of anterior lobe of prostate gland in the assay of metakentrin. *Proc.Soc.exper.Biol.Med.* 46: 644; 1941.
- Greep, R.O.; van Dyke, H.B. and Chow, B.F.: Gonadotropins of the swine pituitary. Various biological effects of purified thylakentrin (FSH) and pure metakentrin (LH). *Endocrinology* 30: 635; 1942.
- Guillemin, R. Hypothalamic polypeptides releasing pituitary hormones. *Metabolism.* 13: 1206; 1964.
- Haller, J.: Tierexperimentelle Untersuchungen am Lipschütz-Tier über die Einwirkung von sogenannten Phytohormonen auf die gonadotrope Funktion des Hypophysenvorderlappens. *Geburtsh. Frauenheilk.* 18: 1347; 1958.
- Haller, J.: Über die Wirkung von 17 α -Äthinyl-19-nortestosteron-önanthat auf Hypophysenzwischenhirnsystem und Uteruswachstum virgineller Meerschweinchen. *Acta endocrin. Suppl.* 51: 907; 1960.
- Haller, J.: Vergleichende Prüfung der Wirkung synthetischer Gestagene auf Hypophyse und Genitalorgane im "Milzovarplanimetertest". In: *Verhandlungen 3. Weltkongreß Internat. Fed. Gynäk. Geburtsh.* 1: 75; Wien 1961.
- Haller, J.: Beeinflussung der Ovulation durch Gestagene. *Geburtsh. Frauenheilk.* 22: 211; 1962.
- Harris, G.W.: The pituitary stalk and ovulation. In: *Control of Ovulation*; 56; ed. by C.A. Vilee; Pergamon Press, Oxford 1961.
- Hertz, R. and Meyer, R.K.: The effect of testosterone, testosterone-propionate and dehydroandrosterone on the secretion of the gonadotropic complex as evidenced in parabiotic rats. *Endocrinology* 21: 756; 1937.
- Hertz, R.; Tullner, W. and Raffelt, E.: Progestational activity of orally administered 17 α -ethinyl-19-nortestosterone. *Endocrinology* 54: 228; 1954.
- Hohlweg, w. und Junkmann, K.: Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des Hypophysenvorderlappens. *Klin. Wochenschr.* 11: 321; 1932.

- Holmes, R.L. and Mandl, A.M.: Oral contraceptives: an assessment of their mode of action. *Lancet* 7240: 1174; 1962.
- Hoogstra, M.J. and Paesi, F.J.A.: The FSH-content of the hypophysis of the rat as influenced by androgen. *Acta endocrin.* 24: 353; 1957.
- Jensen, H.; Simpson, M.E.; Tolksdorf, S. and Evans, H.M.: Chemical fractionation of the gonadotropic factors present in sheep pituitary. *Endocrinology* 25: 57; 1939.
- Johannisson, E.; Tillinger, K.-G. and Diezfalusy, E.: Effect of oral contraceptives on the ovarian reaction to human gonadotropin in the amenorrhoeic women. *Fertility and Sterility* 16: 292; 1966.
- Johnson, S.G. 1961; siehe Martin, L. and Cuningham, K. 1961.
- Jones, I.C. and Ball, J.N.: Ovarian-pituitary relationship. In: *The Ovary*: 361; ed. by Sir Solley Zuckerman, Academic Press, New York, London, 1962.
- Junkmann, K.: Experimentelle Gesichtspunkte bei der Prüfung synthetischer Gestagene. *Dtsch. med. Wschr.* 88: 629; 1963.
- Kinle, F.A. and Dorfman, R.I.: Pituitary gonadotropin inhibition by certain new steroids. *Acta endocrin. Suppl.* 51: 855; 1960.
- Lamond, D.R. and Emmens, C.W.: Nature of urinary gonadotropins. In: *Human Pituitary Gonadotropins*: 121; ed. by A. Albert, publ. by C.C. Thomas, Springfield, Illinois, USA, 1961.
- Langecker, H.: Die Metabolite im menschlichen Harn nach Verabreichung von 17 α -Aethinyl-19-nortestosteron (Noraethisteron). *Acta endocrin.* 37: 14; 1961.
- Lohstroh, A.J.; Squire, P.G. and Li, C.H.: Bioassay of interstitial cell-stimulating hormone in the hypophysectomized male rat by the ventral prostate test. *Endocrinology* 62: 833; 1958.
- Loraine, J.A.: Some observations on the urinary gonadotrophin assays as an index of pituitary function in man. *Acta endocrin. Suppl.* 50: 85; 1960.
- Loraine, J.A. 1961; siehe Martin, L. and Cuningham, K. 1961.
- Lunefeld, B.; Sulimovici, S. and Rabau, E.: Mechanism of action of antioovulatory compounds, *J. clin. Endocrinol. Metabolism* 23: 391; 1963.

- McCann, S.M. and Ramirez, V.D.: The neuroendocrine regulation of hypophyseal luteinizing hormone secretion. Recent Progr. Horm. Res. 20: 131; 1964.
- McCann, S.M.; Ramirez, V.D. and Igarashi, M.: Hypothalamic FSH- and LH-releasing factors. Metabolism. 13: 1177; 1964.
- McCann, S.M. and Taleisnik, S.: The effect of a hypothalamic extract on the plasma luteinizing (LH) activity of the estrogenized, ovariectomized rat. Endocrinology 68: 1071; 1961.
- Martin, L. and Cuningham, K.: Inhibition of human pituitary gonadotropin output by 17 α -ethinyl-19-nortestosterone. In: Human Pituitary Gonadotropins: 226; ed. by A. Albert, publ. by C.C. Thomas, Springfield, Illinois, USA, 1961.
- Matsumoto, S.; Ito, T. und Inoue, S.: Untersuchungen der ovulationshemmenden Wirkung von 19-Norsteroiden an laparotomierten Patientinnen. Geburtsh. Frauenheilk. 20: 250; 1960.
- Matsumoto, S. und Kurisaki, K.: zit. nach Matsumoto et al. 1960.
- Mears, E.: Trial of oral contraceptives. Lancet 7122: 491; 1960 I.
- Mears, E. and Grant, E.C.G.: "Anovlar" as an oral contraceptive. Brit. Med. J. 5297: 75; 1962 II.
- Meyer, R.K. and Biddulph, C.: The influence of estradiol on the secretion of gonadotropic hormone in adult parabiotic rats. Amer. J. Physiol. 134: 141; 1941.
- Meyer, R.K. and Hertz, R.: The effect of oestrone on the secretion of the gonadotropic complex as evidenced in parabiotic rats. Amer. J. Physiol. 120: 232; 1937.
- Miyake, T.: Inhibition effect of various steroids on gonadotrophin hypersecretion in parabiotic mice. Endocrinology 69: 534; 1961.
- Miyake, T. and Kobayashi, F.: Effect of Norethisterone (17 α -ethinyl-19-nortestosterone) and certain other steroids on the female gonads of hypophysectomized immature rats. Endocrino. Japon. 7(3): 215; 1960.
- Morat6-Manaro, J.; Cerviño, J.M. and Maggiolo, J.: A method of determining interstitial-cell stimulating hormone in urine: some results in normal and pathological cases. In: Colloquia on Endocrinology. Ciba Foundation 13: 238; 1960.

- Neumann, F.; Kramer, M. und Junkmann, K.: Tierexperimentelle Untersuchungen mit 17 α -Aethinyl-19-nor-Testosteronacetat. Suppl. ad Medicina Experimentalis 11: 1; 1964.
- Nevinny-Stickel, J.: Inhibition of ovulation determined by pregnanediol excretion. Internat. J. Fertil. 9,1: 57; 1964.
- Nikitovitch-Winer, M. and Everett, J.W.: Functional restitution of pituitary grafts re-transplated from kidney to median eminence. Endocrinology 63: 916; 1958.
- Nikitovitch-Winer, M. and Everett, J.W.: Histologic changes in grafts of rat pituitary on the kidney and upon re-transplantation under the diencephalon. Endocrinology 65: 357; 1959.
- Overbeek, G.A. and de Visser, J.: Difficulties in determining the site of action of ovulationinhibitors. Internat. J. Fertil. 9,1: 177; 1964 a.
- Overbeek, G.A. and de Visser, J.: Different modes of action of two antioovulatory compounds. Acta endocrin. Suppl. 90: 179; 1964 b.
- Paesi, F.J.A. and de Jongh, S.E.: The interstitial cell stimulating hormone content of the hypophysis in intact and gonadectomized rats as measured by the weight increase of the prostate of hypophysectomized recipients. Acta endocrin. 15: 1; 1954.
- Paesi, F.J.A.; de Jongh, S.E. and Engelbregt, A.: Some notable differences between the results of FSH-estimation in rat hypophysis by the extraction and implantation methods respectively. Acta endocrin. 25: 412; 1957.
- Paesi, F.J.A.; de Jongh, S.E.; Hoogstra, H.J. and Engelbregt, A.: The follicle stimulating hormone-content of the hypophysis of the rat as influenced by gonadectomy and oestrogen treatment. Acta endocrin. 19: 49; 1955.
- Paesi, F.J.A.; de Jongh, S.E. and Hoogstra, M.J.: The direct influence of the hypophysis on the prostate and its interference with ICSH measurements. Acta physiol. pharmacol. Neerlandica 4: 445; 1956.
- Paesi, F.J.A. and van Rees, G.P.: Differences between the results of FSH measurement in hypophysis of rats with extraction and implantation techniques respectively. Acta endocrin. 34: 366; 1960.

- Paesi, F.J.A.; Wijnans, M. and de Jongh, S.E.: The FSH-content of the hypophysis as influenced by low concentrations of oestrogen. *Acta endocrin.* 8: 251; 1951.
- Parlow, A.F.: A rapid bioassay method for LH and factors stimulating LH secretion. *Fed.Proc.* 17: 402; 1958.
- Parlow, A.F.: Species differences in luteinizing hormone (LH, ICSH) as revealed by the slope in the prostate assay. *Endocrinology* 73: 509; 1963.
- Parlow, A.F. and Reichert, L.E. jr.: Influence of follicle-stimulating hormone on the prostate assay of luteinizing hormone (LH, ICSH). *Endocrinology* 73: 377; 1963 a.
- Parlow, A.F. and Reichert, L.E. jr.: Species differences in follicle-stimulating hormone as revealed by the slope in the Steelman-Pohley assay. *Endocrinology* 73: 740; 1963 b.
- Payne, R. and Runster, R.H.: Quantitative response of the rat ovary to pituitary gonadotropin as modified by estrogen. *Endocrinology* 65: 383; 1959.
- Payne, R.W.; Runster, H.R.; Hagans, J.A. and Morrison, R.D.: Assay of follicle stimulating hormone in the hypophysectomized estrogen-treated immature rat. *Endocrinology* 65: 389; 1959.
- Peeters, F.; van Roy, M.; Oeyen, R.; Snaauwaert, R. und van Tilborg, A.: Medizinische Indikationen zur Hemmung der Ovulation. *Der Internist*, 5.Jahrgang 6.Heft: 246; 1964.
- Perrine, J.W.: The anabolic and antigonadotropic properties of five synthetic 19-nortestosterone analogs. *Acta endocrin.* 37: 376; 1961.
- Pincus, G.: Some effects of progesterone and related compounds upon reproduction and early development in mammals. *Acta endocrin. Suppl.* 28: 18; 1956.
- Pincus, G.; Chang, M.C.; Zarrow, M.X.; Hafez, E.S.E. and Merrill, A.: Studies of the biological activity of certain 19-norsteroids in female animals. *Endocrinology* 59: 659; 1956 a.
- Pincus, G.; Chang, M.C.; Zarrow, M.X.; Hafez, E.S.E. and Merrill, A.: Effects of certain 19-norsteroids on reproductive processes in animals. *Science* 124: 890; 1956 b.
- Pincus, G.; Rock, J.; Garcia, C.R.; Rice-Wray, E. and Rodriguez, I.: Fertility control with oral medication. *Amer. J. Obsttr. Gynec.* 75: 1333; 1958.

- Ramirez, V.D.; Abrams, R.M. and McCann, S.M.: Effect of estrogen implants in the hypothalamo-hypophyseal region on the secretion of LH in the rat. Fed. Proc. 22: 506; 1963.
- Richter, R.H.H.: Bericht über die am 2. und 3. März 1963 in Brüssel abgehaltene zweite europäische Tagung der International Fertility Association. Gynaecologica 156: 306; 1963.
- Rizkallah, T.; Taymor, M.L.; Park, M. and Batt, R.: An immunoassay method for luteinizing hormone of pituitary origin. J.clin. endocrin. 25/7: 943; 1965.
- Rock, J.; Pincus, G. and Garcia, C.R.: Effects of certain 19-norsteroids on the normal human menstrual cycle. Science 124: 891; 1956.
- Rudel, H.W. and Kincle, F.A.: The biology of antifertility steroids. Acta endocrin. Supp. 105; 1966.
- Sas, M.; Resch, B. und Szontágh, F.E.: Die Angriffspunkte der oralen Antikonzeptionsmittel. Zbl. Gynäk. Heft 18: 569; 1966.
- Saunders, F.J.: Some notes on the mode of action of Norethynodrel in preventing fertility in rats. Acta endocrin. 46: 157; 1964.
- Saunders, F.J. and Drill, V.A.: Some biological activities of 17-ethynyl and 17-alkyl derivatives of 17-hydroxyestrogens. Annals of the New York Academy of Science 71: 516; 1958.
- Sawyer, C.H.: Nervous control of ovulation. In: Endocrinology of Reproduction: 1; ed. by C.W.Lloyd; Academic Press, New York, 1959.
- Schally, A.V. and Bowers, C.Y.: Corticotropin releasing factor and other hypothalamic peptides. Metabolism 13: 1190; 1964.
- Schmidt-Elmendorf, H.; Loraine, J.A. and Bell, E.T.: Studies on the biological activity of various gonadotrophin preparations. J. Endocrinol. 24: 349; 1962.
- Schwartz, N.B. and Cardarelli, D.: Plasma LH in cyclic rats. Proc. Soc. exper. Biol. Med. 119: 16; 1965.
- Segaloff, A.; Steelman, S.L. and Flores, A.: Prolactin as a factor in the ventral prostate assay for luteinizing hormone. Endocrinology 59: 233; 1956.

- Simpson, M.E.: Comparison of follicle-stimulating and interstitial-cell-stimulating properties of gonadotropins from pituitary and nonpituitary sources. In: Human Pituitary Gonadotropins: 123; ed. by A. Albert; publ. by C.C. Thomas; Springfield, Illinois, USA, 1961.
- Simpson, M.E.; Li, C.H. and Evans, H.M.: Comparison of methods for standardisation of pituitary interstitial-cell-stimulating hormone (ICSH). Endocrinology 30: 977; 1942.
- Smith, B.D. and Bradbury, J.T.: Influence of progestins on ovarian response to estrogen and gonadotrophins in immature rats. Endocrinology 78: 297; 1966.
- Snedecor, G.W.: Statistical Methods: 55; Ames, Iowa, 1957.
- Steelman, S.L. and Pohley, F.M.: Assay of the follicle stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. Endocrinology 53: 604; 1953.
- Swelheim: Comparative ICSH-estimation in the serum of gonadectomized male and female rats with a transplanted ovary. Acta endocrin. 49/2: 239; 1965.
- Szentágothai, J.; Flerkó, B.; Mess, B. and Halász, B.: Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary. Akadémiai Kiado, Budapest, 1962.
- Szontágh, F.E.: zit. nach Sas, M.; Kovacs, L.; Nemeth, I. und Szontágh, F.E.: über den Mechanismus der ovulationshemmenden Wirkung der oralen progestagene. Endokrinologie 46: 58; 1964.
- Szontágh, F.E. and Uhlarik, S.: The possibility of a direct "internal" feed-back in the control of pituitary gonadotrophin secretion. J. Endocrinol. 29: 203; 1964.
- Szontágh, F.E. und Sas, M.: Zur Frage der ovulationshemmenden Dosis oraler Gestagene. Zbl. Gynäk. 86,12: 410; 1964.
- Taleisnik, S. and McCann, S.M.: Effects of hypothalamic lesions on the secretion and storage of hypophysial luteinizing hormone. Endocrinology 68: 263; 1961.
- van der Werff ten Bosch, J.J.; van Mees, G.F. and Wolthuis, O.L.: Prolonged vaginal oestrus and normal oestrus cycle in the rat. Acta endocrin. 40: 103; 1962.
- van Mees, G.F.: Influence of steroid sex hormones on the FSH-release by rat hypophysis in vitro. Acta endocrin. 36: 485; 1961.

- van Rees, G.P.: Interplay between steroid sex hormones and secretion of FSH and ICSH. In: Major Problems in Neuroendocrinology: 322; ed. by E. Bajusz and G. Jasmin; S. Karger, Basel, New York, 1964.
- van Rees, G.P.; Wolthuis, O.L. and de Jongh, S.E.: The ventral prostate test for ICSH with special reference to a possible disturbing influence of growth hormone and prolactin. Acta physiol. pharmacol. Neerlandica 10: 197; 1961.
- Vanek, R.: Ovarian inhibition with ethynediol-diacetate: influence on steroid genesis. Internat. J. Fertil. 9,1: 129; 1964.
- werth, G.: Die gonadotropen Hormone. Arzneimittelforsch. 5: 409-421; 735-746; 1955. 6: 79-94; 1955/56.
- Wide, L.: Immunological determination of pituitary luteinizing hormone in the urine of normal women. Acta endocrin. Suppl. 67: 128; 1962.
- Woods, M.C. and Simpson, M.E.: Pituitary control of the testes of the hypophysectomized rat. Endocrinology 69: 91; 1961.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACTH	Adenocorticotropes Hormon
AENTA	17 -Aethinyl-19-nortestosteronazetat
D 1	Zyklusstadium der Ratte; 1.Tag des Diöstrus
D 2	Zyklusstadium der Ratte; 2.Tag des Diöstrus
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GH	growth hormone; Wachstumshormon
HCG	human chorionic gonadotropin; mensch- liches Chorion-Gonadotropin
HE	Hypophysektomie
ICSH	interstitial cell stimulating hormone = LH
I.E.	internationale Einheiten
LH	Luteinisierendes Hormon
LTH	Luteotropes Hormon
Ö	Zyklusstadium der Ratte; Östrus
P	Zyklusstadium der Ratte; Proöstrus
TSH	thyreostimulating hormone; Thyreotropin

Herrn Professor Kramer möchte ich an dieser Stelle für das Überlassen des interessanten Themas danken und für seine wertvollen Anregungen bei der Durchführung der Experimente.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Dr. von Berswordt-Wallrabe, der mir jederzeit mit seinem Rat zur Seite stand. Die Arbeit in seinem Laboratorium wird mir in angenehmer Erinnerung bleiben.

Herrn Dr. Neumann danke ich für sein stets reges Interesse am Fortgang der Versuche und für die Durchsicht der Arbeit.

Fräulein Beate Vieler und Fräulein Angelika Creutz besorgten die Hypophysektomien. Ich bin ihnen für ihre freundliche Hilfe sehr verbunden.

Mein Dank gilt nicht zuletzt der Firma Schering, die durch ihre großzügige materielle Unterstützung diese Arbeit ermöglichte.

Lebenslauf

Am 4. Mai 1941 wurde ich als Sohn des Dentisten Wilhelm Kraehahn und seiner Ehefrau Hildegard Kraehahn, geb. Schinke, in Neuruppin geboren.

Nach Abschluß der Grundschule besuchte ich in Berlin die Oberschule wissenschaftlichen Zweiges. 1960 legte ich die Reifeprüfung ab. Im Sommer des gleichen Jahres begann ich das Studium der Medizin in Berlin. Das Physikum bestand ich 1962 in Heidelberg. Die Klinischen Semester verbrachte ich wiederum in Berlin. Im Herbst 1966 schloß ich das Studium mit dem Medizinischen Staatsexamen ab. - Augenblicklich bin ich als Medizinalassistent tätig. Seit dem 21. März 1967 bin ich verheiratet.

